



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ  
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ  
ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Ν. ΜΑΛΙΖΟΣ

**Μελέτη της εξέλιξης του οστικού πόρου με τηλερυθμιζόμενο σύστημα  
διοστικών υπερήχων**



**ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ Α. ΠΑΠΑΧΡΗΣΤΟΣ**  
ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

ΛΑΡΙΣΑ 2006



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ**  
**ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 12983/1  
Ημερ. Εισ.: 29.07.2014  
Δωρεά: ΣΥΓΓΡΑΦΕΑΣ  
Ταξιθετικός Κωδικός: Δ  
617.150 683 23  
ΠΑΠ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ



004000119793

✓



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ  
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ  
ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Ν. ΜΑΛΙΖΟΣ**

**Μελέτη της εξέλιξης του οστικού πώρου με τηλερυθμιζόμενο σύστημα  
διοστικών υπερήχων**

**ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ Α. ΠΑΠΑΧΡΗΣΤΟΣ  
ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΛΑΡΙΣΑ 2006**

**“Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα”  
(Νόμος 5343/32, άρθρο 200, παρ. 2)**

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Επιβλέπων: Κωνσταντίνος Ν. Μαλίζος:** Καθηγητής Ορθοπαιδικής  
Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

**Θεόφιλος Σ. Καραχάλιος:** Αναπληρωτής Καθηγητής Ορθοπαιδικής  
Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

**Δημήτριος Ι. Φωτιάδης:** Αναπληρωτής Καθηγητής Πληροφορικής  
Τμήμα Πληροφορικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

## ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**Μαλίζος Κωνσταντίνος:** Καθηγητής Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Καραχάλιος Θεόφιλος:** Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Φωτιάδης Δημήτριος:** Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Πληροφορικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

**Μπερής Αλέξανδρος:** Καθηγητής Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

**Κάππας Κωνσταντίνος:** Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Χούστης Ηλίας:** Καθηγητής Τμήματος Μηχανικών Η/Υ, Τηλεπικοινωνιών και Δικτύων Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Λύκας Αριστείδης:** Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Πληροφορικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Στη μνήμη του πατέρα μου

Στη μητέρα μου

Στη γυναίκα μου Μαρία

Στα παιδιά μου Αλέξανδρο και Ζαφειρία

Με άπλετο σεβασμό και βαθειά ευγνωμοσύνη στους δασκάλους μου:

Κωνσταντίνο Μαλίζο

Θεόφιλο Καραχάλιο

Θεοφάνη Μωραΐτη



## ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Τα αποτελέσματα της παρούσης πειραματικής μελέτης δημοσιεύτηκαν στα κάτωθι διεθνή επιστημονικά περιοδικά:

1. An ultrasound wearable system for the monitoring and acceleration of fracture healing in long bones.  
V. C. Protopappas, D. Baga, D. I. Fotiadis, A. Likas, A. A. Papachristos, K. N. Malizos  
IEEE Trans Biomed Eng 2005;52(9):1597-1608.  
PubMed ID : 16189973
2. Transosseous application of Low-Intensity Ultrasound for the enhancement and monitoring of fracture healing process in a sheep osteotomy model.  
Konstantinos N. Malizos, Athanasios A. Papachristos, Vasilios C. Protopappas, Dimitrios I. Fotiadis  
Bone 2006;38(4):530-539.  
PubMed ID : 16361120
3. Low intensity pulsed ultrasound for bone healing: An overview.  
Konstantinos N. Malizos, Michael E. Hantes, Vassilios Protopappas, Athanasios Papachristos  
Injury 2006;37(Suppl1):56-62.  
PubMed ID: 16581076

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εκπόνηση της παρούσας διατριβής δεν θα ήταν εφικτή χωρίς τις προσπάθειες πολλών ανθρώπων που εργάστηκαν πάνω στο συγκεκριμένο θέμα. Θεωρώ ύψιστη υποχρέωσή μου να απευθύνω τις ευχαριστίες μου στους ανθρώπους αυτούς, οι οποίοι είτε ως στενοί συνεργάτες είτε ως απλοί πάροχοι βοήθειας σε κάποιες στιγμές, συνετέλεσαν ο καθένας με το δικό του τρόπο ώστε να ολοκληρωθεί η συγκεκριμένη ερευνητική δουλειά.

Στον Καθηγητή Ορθοπαιδικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και Διευθυντή της Ορθοπαιδικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, κ. Κωνσταντίνο Ν. Μαλίζο θέλω να εκφράσω την αμέριστη ευγνωμοσύνη και το σεβασμό μου για την ανάθεση του θέματος της διατριβής, καθώς επίσης και για τις πολύτιμες γνώσεις και εμπειρίες που ως δάσκαλος μου μετέδωσε κατά τη διάρκεια τόσο της ερευνητικής αυτής μελέτης, όσο και κατά το χρόνο της εξειδίκευσής μου στην κλινική του.

Τον Αναπληρωτή Καθηγητή Ορθοπαιδικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, κ. Θεόφιλο Σ. Καραχάλιο ευχαριστώ θερμά, ως μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής για τις υποδείξεις του, τις γνώσεις που μου μετέδωσε και τη βοήθειά του στην εμβιομηχανική ανάλυση που πραγματοποίησε στα οστικά δοκίμια των πειραματόζωνων.

Τον Αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Πληροφορικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Δημήτριο Ι. Φωτιάδη ευχαριστώ ιδιαίτερα, ως μέλος επίσης της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής για τις υποδείξεις του, τη μεγάλη οργανωτική και επιστημονική συμβολή του στο κομμάτι της μελέτης που αφορούσε τη μετάδοση και ερμηνεία της ιατρικής πληροφορίας, καθώς επίσης και για τους νέους ορίζοντες που μου άνοιξε στον τομέα της Βιοτεχνολογίας.

Τον Ηλεκτρολόγο Μηχανικό, υποψήφιο διδάκτορα και ερευνητή του Εργαστηρίου Ιατρικής Τεχνολογίας και Ευφώνων Πληροφορικών Συστημάτων του Τμήματος Πληροφορικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Βασίλειο Χ. Πρωτόπαππα ευχαριστώ θερμά ως άμεσο συνεργάτη και συνερευνητή καθόλη τη χρονική διάρκεια της μελέτης. Εργαστήκαμε από κοινού, ο καθένας πάνω στο επιστημονικό αντικείμενο ενασχόλησής του, και η βοήθεια που μου προσέφερε στον τομέα που τον αφορούσε ήταν αμέριστη.

Τον προσωπικό φίλο και δάσκαλο, Αναπληρωτή Διευθυντή ΕΣΥ της Ορθοπαιδικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας κ. Θεοφάνη Γ. Μωραΐτη ευχαριστώ θερμά για τις γνώσεις που μου μετέδωσε, τη βοήθεια που μου παρήχε στα χειρουργεία των ζώων και τη συμβολή του στην αξιολόγηση των μετεγχειρητικών ακτινογραφιών. Επίσης, θέλω να απευθύνω τις ευχαριστίες μου στον επίσης προσωπικό φίλο και Επιμελητή Β' ΕΣΥ της ως άνω Κλινικής κ. Μιχαήλ Η. Χαντέ, η διατριβή του οποίου αποτελεί το προοίμιο της δικής μου διατριβής, για την

πολύτιμη καθοδήγησή που μου προσέφερε και τη συμβολή του στα χειρουργεία και την αξιολόγηση των ακτινογραφιών.

Τους φίλους και συνειδικευόμενους την εποχή εκπόνησης της μελέτης, Ορθοπαιδικούς Χειρουργούς κ.κ Ζιμπή Α., Ζάχο Β., Μπασδέκη Γ. και Πουλτσίδη Λ. ευχαριστώ για τη βοήθεια που μου προσέφεραν στα χειρουργεία των ζώων.

Τις προϊστάμενες και το προσωπικό της Ορθοπαιδικής Κλινικής και του Χειρουργείου του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας ευχαριστώ για τη βοήθεια και τις λύσεις που μου προσέφεραν σε διάφορα θέματα σχετικά με την παρούσα ερευνητική δουλειά.

Τους κτηνιάτρους Αθανασία Τζιβάρα, Αικατερίνη Τάπανα, Γιώργο Παππά και το ζωοκόμο Ανδρέα Τρούκη του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας ευχαριστώ θερμά για την πολύτιμη συμβολή τους στο σταβλισμό, προεγχειρητικό έλεγχο, αναισθησία, ακτινολογικό έλεγχο και μετεγχειρητική φροντίδα των ζώων.

Τον Επίκουρο Καθηγητή Βιοστατιστικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Ηλία Ζιντζαρά ευχαριστώ για τη βοήθειά του στη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της μελέτης.

Τον τέως Διευθυντή του Τμήματος Ιατρικής Απεικόνισης του Γενικού Κρατικού Νοσοκομείου Λάρισας και νυν Αναπληρωτή Καθηγητή Ακτινολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης, κ. Απόστολο Καραντάνα ευχαριστώ ιδιαίτερα για την βοήθεια που προσέφερε όσον αφορά τη μέτρηση της οστικής πυκνότητας των δοκιμίων από τα πειραματόζωα.

Τέλος θα ήθελα να αναφερθώ στη μνήμη του εκκλειπόντος Επίκουρου Καθηγητή Χειρουργικής του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, κ. Διονύσιου Γιανναράκου, ο οποίος στάθηκε δίπλα και στήριξε ολόκληρη την ερευνητική ομάδα κατά την αρχική φάση της μελέτης. Η επιστημονική και το ήθος του θα παραμένουν ανεξίτηλα στις καρδιές όλων των συνεργατών.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ .....</b>	<b>ΣΕΛ.</b>
ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	1
<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
ΠΩΡΩΣΗ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ .....	3
Δομή και λειτουργία των οστών .....	4
Φυσιολογία της πώρωσης .....	6
Βιοχημεία της πώρωσης .....	11
Εμβιομηχανική της πώρωσης .....	14
Βιολογία και εμβιομηχανική της οστεοσύνθεσης των καταγμάτων .....	19
ΠΡΟΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΠΩΡΩΣΗΣ .....	21
Οστικά μοσχεύματα .....	23
Αυξητικοί παράγοντες .....	25
Γονιδιακή θεραπεία .....	29
Οστεοκαθοδηγητικά υλικά .....	31
Οστεογενετικά υλικά .....	33
Ηλεκτρικά-ηλεκτρομαγνητικά πεδία .....	35
ΥΠΕΡΗΧΟΙ .....	40
Οι φυσικές αρχές των υπερήχων και η εφαρμογή τους στην ιατρική ..	40
Αλληλεπίδραση υπερήχων και ιστών .....	42
Προαγωγή της πώρωσης με χαμηλής έντασης υπερήχους .....	45
Παρακολούθηση της πώρωσης με χαμηλής έντασης υπερήχους .....	58
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
Σκοπός της μελέτης .....	64
Υλικό και μέθοδος .....	65
Αποτελέσματα .....	85
Συζήτηση .....	103
Συμπεράσματα .....	109
Περίληψη .....	109
Βιβλιογραφία .....	112

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η πρώτη δεκαετία του 21ου αιώνα καθιερώθηκε διεθνώς σαν δεκαετία αφιερωμένη στα Οστά και στις Αρθρώσεις σε μια προσπάθεια να δοθεί ιδιαίτερη έμφαση στην επιστημονική έρευνα, με σκοπό την εξεύρεση νέων τρόπων θεραπευτικής αντιμετώπισης των κακώσεων και παθήσεων του μυοσκελετικού συστήματος στον άνθρωπο. Στα πλαίσια αυτής της συνεχώς εντεινόμενης έρευνας, η σύγχρονη Ορθοπαιδική αναθεωρεί τον ήδη υπάρχοντα χάρτη, επιδεικνύοντας πραγματικά καινοτόμες θεραπευτικές μεθόδους, οι οποίες καλούνται να αντικαταστήσουν τις ήδη υπάρχουσες τα τελευταία πενήντα χρόνια. Σε αρκετές περιπτώσεις, η ραγδαία εξελισσόμενη τεχνολογία αποτελεί ένα σημαντικό αρωγό στο έργο αυτό.

Η πάρωση των καταγμάτων αποτελεί μια πολύπλοκη βιολογική διεργασία, η οποία αποσκοπεί στην πλήρη αποκατάσταση της αρχιτεκτονικής και των μηχανικών ιδιοτήτων του οστού. Αναλογιζόμενος κανείς την αύξηση της πιθανότητας πρόκλησης κατάγματος που έχει επιφέρει ο σύγχρονος πολιτισμός, είναι σε θέση να εκτιμήσει πραγματικά την αξία της ως άνω αναφερθείσας βιολογικής διεργασίας. Η πάρωση, τις περισσότερες φορές, απαιτεί ικανό χρόνο για να ολοκληρωθεί αναγκάζοντας έτσι τον ασθενή να απέχει από την εργασία του καθώς επίσης και από τις συνήθεις καθημερινές δραστηριότητες. Το γεγονός αυτό εκφράζει το μέγεθος των κοινωνικοοικονομικών επιπτώσεων που επιφέρει σε μια χώρα ο συνολικός αριθμός των καταγμάτων που προκαλούνται σε ετήσια βάση. Αν και τις περισσότερες φορές η πάρωση εξελίσσεται φυσιολογικά, εντούτοις σε ορισμένες περιπτώσεις είναι δυνατό να καθυστερήσει ή να ανασταλεί καταλήγοντας σε ψευδάρθρωση, παρατείνοντας ακόμη περισσότερο τις συνέπειες για τον ασθενή. Είναι προφανές, ότι η εξεύρεση νέων τρόπων προαγωγής και επιτάχυνσης της πάρωσης απασχολούν σοβαρά ολόκληρη την επιστημονική κοινότητα που εμπλέκεται στον τομέα των κακώσεων του μυοσκελετικού συστήματος. Μέσα στο πλαίσιο αυτό, οι μελέτες που έχουν σαν αντικείμενο την προαγωγή της πάρωσης είναι πολλές, περιλαμβάνοντας ένα ευρύ φάσμα, από τα οστικά μωσχεύματα μέχρι τις παρεμβάσεις σε επίπεδο μεταβολικών μηχανισμών που ελέγχονται από το γενετικό κώδικα.

Μέχρι σήμερα, το «χρυσό πρότυπο» για την παρακολούθηση της εξέλιξης της πάρωσης αποτελεί ο ακτινολογικός έλεγχος. Η διαδικασία αυτή, εκτός από την επιβάρυνση του ασθενούς λόγω της ιονίζουσας ακτινοβολίας, προϋποθέτει και την προσέλευσή του στο χώρο που εδράζεται το ακτινολογικό εργαστήριο με αποτέλεσμα ένα επιπρόσθετο οικονομικό κόστος, ιδιαίτερα στις περιπτώσεις κατά τις οποίες η γεωγραφική απόσταση είναι σημαντική. Δυστυχώς, η εξεύρεση μιας νέας μεθόδου που θα επέτρεπε την παρακολούθηση της εξέλιξης της πάρωσης εκ του μακρόθεν, θα μείωνε αφενός μεν τις τυχόν επιβλαβείς συνέπειες για την υγεία και την κοινωνικοοικονομική

ζωή του ασθενούς, αφετέρου δε θα επέτρεπε στο θεράποντα ιατρό να παρέμβει άμεσα και στον κατάλληλο χρόνο προκειμένου να αντιμετωπίσει τις οποιεσδήποτε επιπλοκές.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή αποτελεί μια πειραματική ερευνητική μελέτη που αποσκοπεί στη διερεύνηση της δυνατότητας προαγωγής και παρακολούθησης της εξέλιξης του οστικού πώρου με τηλερυθμιζόμενο σύστημα διοστικών υπερήχων. Εμπνευστής της επιστημονικής ιδέας, κύριος ερευνητής και επιστημονικά υπεύθυνος της μελέτης αυτής είναι ο Καθηγητής Ορθοπαιδικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Κωνσταντίνος Ν. Μαλίζος. Ο συγγραφέας συμμετείχε ως κύριος συνερευνητής. Η παρούσα ερευνητική δουλειά είναι συνέχεια προηγούμενης υπό την εποπτεία του ιδίου Καθηγητή, ο οποίος ως Επίκουρος τότε Καθηγητής Ορθοπαιδικής στο Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, ήταν ο επιστημονικά υπεύθυνος της διδακτορικής διατριβής του Μιχαήλ Η. Χαντέ, Ορθοπαιδικού Χειρουργού με θέμα «Προαγωγή και διάγνωση της οστεογένεσης με σύστημα υπερήχων». Η εκτέλεσή της έγινε σε συνεργασία με το Τμήμα Πληροφορικής, Εργαστήριο Ιατρικής Τεχνολογίας και Ευφύων Πληροφορικών Συστημάτων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων υπό την εποπτεία του Αναπληρωτή Καθηγητή, Δημητρίου Ι. Φωτιάδη. Το εν λόγω εργαστήριο εκτέλεσε το τμήμα της μελέτης που αφορούσε την ανάπτυξη του συστήματος μετάδοσης, ερμηνείας και αξιολόγησης της ιατρικής πληροφορίας που ελαμβάνετο μέσα από το σήμα των υπερήχων και αποτέλεσε το θέμα της διδακτορικής διατριβής του Βασιλείου Χ. Πρωτόπαππα, Ηλεκτρολόγου Μηχανικού και ερευνητή του εργαστηρίου. Η εκπόνηση της παρούσας διατριβής εντάσσεται στο πλαίσιο της εκτέλεσης του Ευρωπαϊκού Προγράμματος, Κοινωνία της Πληροφορίας (ΕΥ, IST-2000-26350) και χρηματοδοτήθηκε μερικώς από την Ευρωπαϊκή Ένωση.

Στη μελέτη διερευνήθηκε η δυνατότητα των υπερήχων, όταν εφαρμόζονται απευθείας επί του οστού και εκατέρωθεν της εστίας του κατάγματος, για προαγωγή της πώρωσης σε όλα τα επιμέρους στάδιά της και μέσω της αξονικής μετάδοσης του ακουστικού κύματος από το συνεχώς πληρούμενο διακαταγματικό κενό, η παρακολούθηση της εξέλιξης της πώρωσης. Στο Γενικό Μέρος περιγράφεται η πώρωση ως βιολογική διεργασία, οι μέθοδοι ευόδωσής της με τα σημερινά υπάρχοντα μέσα και η επίδραση των υπερήχων στην πώρωση, όπως αυτή προκύπτει από τα σύγχρονα και προγενέστερα βιβλιογραφικά δεδομένα. Στο Ειδικό Μέρος αναλύεται ο σκοπός, το υλικό, η μεθοδολογία, τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα της παρούσας πειραματικής μελέτης. Φιλοδοξία του συγγραφέα είναι οι νέες πληροφορίες που προκύπτουν μέσα από αυτή τη δουλειά να εμπλουτίσουν τις γνώσεις του σύγχρονου Ορθοπαιδικού Χειρουργού και να αποτελέσουν το εφαλτήριο για περαιτέρω διερεύνηση του θέματος σε κάθε μελλοντικό ερευνητή.



### Πώρωση Καταγμάτων

Βλάβη στα οστά μπορεί να προκληθεί από μια πληθώρα παραγόντων. Το τραύμα, οι λοιμώξεις, οι όγκοι και οι ανωμαλίες του γενετικού κώδικα είναι παθολογικές καταστάσεις ικανές να επιφέρουν αλλαγές στη δομή και σύσταση του οστού. Οι αλλαγές αυτές μπορεί να αφορούν τον αριθμό των κυττάρων, την ικανότητα αυτών προς παραγωγή μεσοκυττάριας ουσίας, τη σύσταση και οργάνωση του οργανικού και ανόργανου στοιχείου του οστού με τελικό αποτέλεσμα την πρόκληση κατάγματος.

Κάταγμα είναι η λύση της συνέχειας του οστού, η οποία συνήθως συνοδεύεται από παραμόρφωση, διαταραχή της αιμάτωσης και απώλεια της λειτουργικότητάς του. Πώρωση του κατάγματος είναι το βιολογικό και μηχανικό φαινόμενο, που αποκαθιστά τη συνέχεια, την αρχιτεκτονική και την αντοχή του οστού. Επιπλέον, αποκαθίσταται και η λειτουργικότητα του άκρου ή του τμήματος του σκελετού που υπέστη την κάκωση.

Η πώρωση, αντίθετα με τη διεργασία επούλωσης άλλων ιστών που οδηγεί σε σχηματισμό ουλής, είναι μια πολύπλοκη φυσιολογική διεργασία η οποία οδηγεί σε αναγέννηση του οστού με ανάκτηση των ιδιοτή-

των του για τη μεταφορά φορτίων. Ιστολογικά, αποτελεί μια πρόσκαιρη υποστροφή σε αναπτυξιακές βιολογικές λειτουργίες (ενδοχόνδρινη και ενδομεμβρανώδης οστεογένεση), με αποτέλεσμα την αποκατάσταση της αιμάτωσης και της μηχανικής σταθερότητας στην περιοχή του κατάγματος<sup>1</sup>.

Το είδος και η αποτελεσματικότητα του φαινομένου της πώρωσης εξαρτάται από τη διαταραχή του βιολογικού παράγοντα (αιμάτωση), από την κινητικότητα της περιοχής (μηχανική σταθερότητα), από το είδος του οστού που υπέστη το κάταγμα και από τη θεραπευτική αντιμετώπιση που εφαρμόζεται. Καθυστερημένη πώρωση και ψευδάρθρωση αποτελούν συχνές επιπλοκές του φαινομένου. Σε σύνολο 6.000.000 καταγμάτων που καταγράφονται ετησίως στις ΗΠΑ, η διαδικασία της πώρωσης καταλήγει σε ποσοστό 5-10% στις πιο πάνω αναφερόμενες επιπλοκές και αφορά 300-600.000 κατάγματα ανά έτος<sup>2,3</sup>.

Η θεραπευτική παρέμβαση του γιατρού στο μηχανισμό της πώρωσης γίνεται για να μετριάσει το άλγος, να επιτευχθεί ανάταξη σε ανατομική θέση και να επιταχυνθεί η επάνοδος της λειτουργικότητας. Στόχος του ορθοπαιδικού χειρουργού είναι

η όσο το δυνατό ταχύτερη αντιμετώπιση του κατάγματος, έχοντας βαθιά γνώση της φυσιολογίας της πώρωσης, σεβόμενος όλους τους παράγοντες που την επηρεάζουν και προσπαθώντας να εξεύρει νέες μεθόδους που οδηγούν στην ευόδωσή της.

## Δομή και Λειτουργία των Οστών

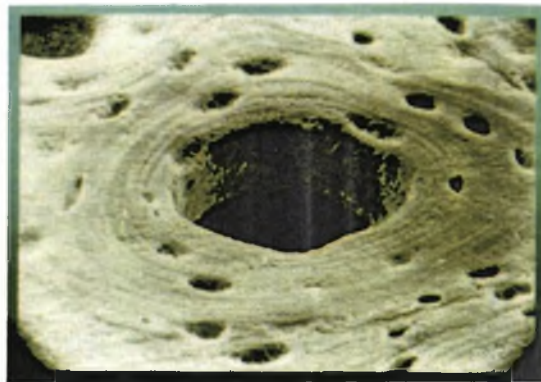
Τα οστά επιτελούν δύο κύριες λειτουργίες. Παρέχουν την απαιτούμενη στήριξη στο σώμα συνθέτοντας το σκελετό για την πρόσφυση μυών, συνδέσμων, τενόντων και συμμετέχουν στο μεταβολισμό και την ομοίωση του ασβεστίου στα υγρά του σώματος.

### Μακροσκοπική σύσταση

Τα μακρά οστά αποτελούνται από: 1) Το περίοστεο, 2) Τον οστίτη ιστό, 3) Το μυελό των οστών και 4) Τα αγγεία και τα νεύρα.

Το περίοστεο αποτελείται από δύο στιβάδες: την έξω ή ινοελαστική που είναι ο φορέας των αγγείων και των νεύρων και χρησιμεύει στην πρόσφυση των μυών και των τενόντων, και την έσω ή οστεογενετική που είναι η στιβάδα των οστεοβλαστών.

Από αρχιτεκτονικής πλευράς υπάρχουν δύο μορφές οστίτη ιστού. Το εξωτερικό, φλοιώδες ή πεταλιώδες και το εσωτερικό, σπογγώδες ή δοκιδώδες οστού (εικ.1 και εικ.2). Το 80% των οστών του σκελετού



Εικ. 1. Φλοιώδες οστού.

αποτελείται από φλοιώδες οστού. Μορφολογικά, ο μηχανικός ρόλος των οστών αντανακλάται στο εξωτερικό τους σχήμα, στη μορφή και το μέγεθος της μυελικής κοιλότητας, στο πάχος του φλοιώδους οστού της διάφυσης και στην αρχιτεκτονική του σπογγώδους οστού των μεταφύσεων και επιφύσεων. Αποδεικνύεται έτσι η συνέργια ποικίλων μηχανισμών εναρμόνισης που έχουν ως αποτέλεσμα την επίτευξη μέγιστης αντοχής από ελάχιστο ποσοτικά υλικό<sup>4,5</sup>. Μέχρι ένα βαθμό, η προσαρμογή των οστών στις λειτουργικές απαιτήσεις ελέγχεται γενετικά, αλλά σύμφωνα με το νόμο του Wolff<sup>6</sup>, τρο-

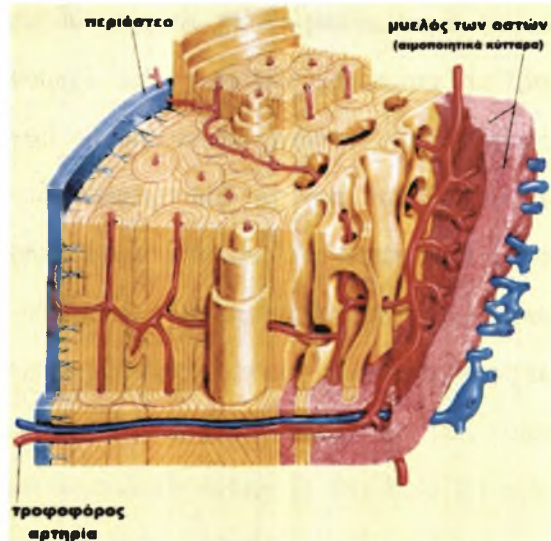


Εικ. 2. Δοκιδικό σύστημα σπογγώδους οστού (σπόνδυλοι).



ποποιείται περαιτέρω με τη διεργασία ανακατασκευής σε όλη τη διάρκεια της ζωής.

Τα αγγεία των οστών ξεκινούν από το περίοστεο και τροφοδοτούν κυρίως τις εξωτερικές στιβάδες και από την τροφοφόρο αρτηρία που μπαίνει μέσα στη μάζα του οστού από το τροφοφόρο τρήμα και διακλαδίζεται σε ανερχόμενο και κατερχόμενο κλάδο. Τα νεύρα βρίσκονται στο περίοστεο και συνοδεύουν την τροφοφόρο αρτηρία στο εσωτερικό του οστού (εικ.3) .



Εικ. 3 . Εγκάρσια τεταρτημία διατομή του αυλού μακρού οστού.

### Μικροσκοπική σύσταση

Τα οστά του ώριμου σκελετού αποτελούνται κατά 35% από οργανικό τμήμα και κατά 65% από ανόργανο τμήμα.

Το οργανικό τμήμα περιλαμβάνει τα κύτταρα (2%) και τη θεμέλια ουσία (98%). Τα κύτταρα του οστίτη ιστού είναι οι οστεοβλάστες, τα οστεοκύτταρα και οι οστεοκλάστες. Η θεμέλια ουσία παράγεται από τους οστεοβλάστες και στο μεγαλύτερο ποσοστό της (90%) αποτελείται από κολλαγόνο τύπου I. Το υπόλοιπο 10% αποτελείται από μικρού μοριακού μεγέθους πρωτεογλυκάνες και άλλες μη κολλαγονικές πρωτεΐνες όπως η οστεοκαλσίνη. Ανευρίσκεται επίσης σε μικρό ποσοστό, κολλαγόνο τύπου V. Η οστεοκαλσίνη είναι μια πρωτεΐνη που παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον γιατί είναι ειδική για τον οστίτη ιστό. Η μισή περίπου ποσότη-

τα της παραγόμενης από τους οστεοβλάστες οστεοκαλσίνης διαχέεται στο εξωκυττάριο υγρό. Συνεπώς, η συγκέντρωσή της στον ορό αντανακλά το σχηματισμό οστού<sup>7</sup>.

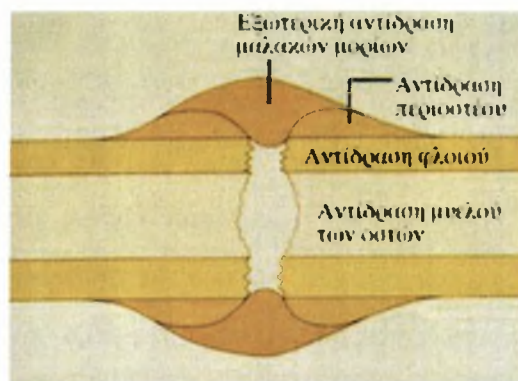
Το ανόργανο τμήμα του οστού αποτελείται κυρίως από κρυστάλλους υδροξυαπατίτη  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Το στοιχείο αυτό αρχικά εναποτίθεται πάνω στο οργανικό υπόστρωμα του οστού με τη μορφή αλάτων φωσφορικού ασβεστίου που στη συνέχεια μεταβάλλονται σε κρυστάλλους υδροξυαπατίτη. Σε μικρότερη αναλογία το ανόργανο τμήμα περιέχει άλατα ανθρακικού ασβεστίου, φωσφορικού μαγνησίου, φθοριούχου και χλωριούχου ασβεστίου.

Το οργανικό τμήμα του οστού τού δίνει το σχήμα του και συμβάλλει στην αντοχή του σε συμπίεση. Η αποτιτάνωση (μετάλ-

λωση) της θεμέλιας ουσίας είναι υπεύθυνη για τις μηχανικές ιδιότητες του ώριμου οστίτη ιστού (αντοχή και ακαμψία). Εάν αφαιρεθεί ένα από τα δύο τμήματα δεν επέρχεται καμιά αλλαγή στο σχήμα του οστού. Αντίθετα, είναι εμφανείς οι μεταβολές της μηχανικής του συμπεριφοράς, όταν αφαιρεθεί το ανόργανο τμήμα. Τα οστά γίνονται ιδιαίτερα εύκαμπτα και μπορεί να στρεβλωθούν ή να καμφθούν, χωρίς να συμβεί κάταγμα. Όταν αφαιρεθεί το οργανικό τμήμα, τα οστά γίνονται ιδιαίτερα εύθραπτα. Η ωρίμανση της θεμέλιας ουσίας συνοδεύεται από αύξηση της ακαμψίας του οστού, γεγονός που εξηγεί τη διαφορετική μηχανική συμπεριφορά των οστών των παιδιών, όταν υφίστανται κατάγματα.

### Φυσιολογία της Πώρωσης

Προκειμένου να γίνουν αντιληπτές οι επιμέρους διεργασίες που συνθέτουν την πώρωση στο σύνολό της, είναι χρήσιμο να γίνει σαφής διάκριση της απάντησης στην κάκωση τεσσάρων περιοχών στην εστία του κατάγματος. Οι περιοχές αυτές είναι ο μυελός των οστών, ο φλοιός, το περίοστεο και οι περίξ μαλακοί ιστοί (εικ.4). Ανάλογα με τον τύπο, τη θέση και τη μέθοδο αντιμετώπισης του κατάγματος, μία ή περισσότερες από τις πιο πάνω αναφερόμενες περιοχές μπορεί να



Εικ. 4. Τύποι ιστικής αντιδράσεως στην περιοχή του κατάγματος.

αντιδράσουν ταυτόχρονα. Ιστολογικά, η πώρωση έχει διαιρεθεί σε πρωτογενή και δευτερογενή.

### Πρωτογενής πώρωση (primary bone healing)

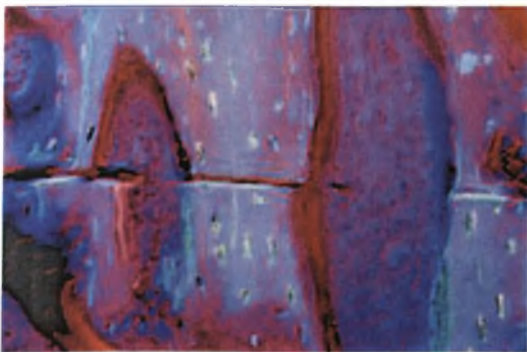
Ο όρος πρωτογενής πώρωση χρησιμοποιήθηκε αρχικά για να περιγράψει ακτινογραφίες μετά από τέλεια ανατομική ανάταξη και σταθερή οστεοσύνθεση. Τα κύρια κριτήρια ήταν έλλειψη σχηματισμού εξωτερικού πώρου και σταδιακή εξαφάνιση της στενής καταγματικής γραμμής. Ο Danis<sup>8</sup> περιέγραψε το φαινόμενο ως "soudure autogene", δηλαδή αυτογενής συρραφή.

Η πρωτογενής πώρωση απαιτεί απόλυτη σταθερότητα. Μια πιο ακριβής περιγραφή αυτής της κατάστασης δίνεται από τον Steinemann:<sup>9</sup> "Σταθερή οστεοσύνθεση με διακαταγματική συμπίεση έχει ως αποτέλεσμα τη στερεή συναρμολόγηση οστού και

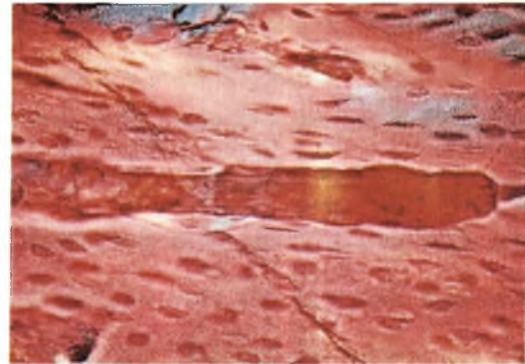
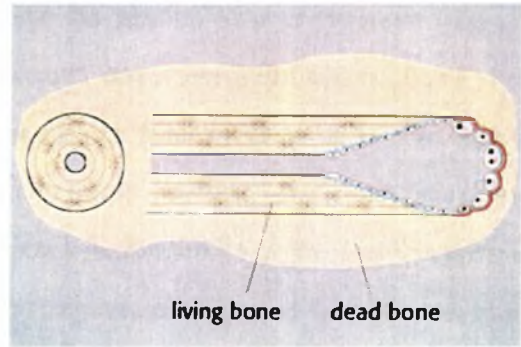
εμφυτεύματος με συνοδό αποφυγή οποιασδήποτε κίνησης στην περιοχή του κατάγματος". Αυτό επιτυγχάνεται χειρουργικά και μόνο, μετά από ακριβή ανατομική ανάταξη του κατάγματος και σταθερή συγκράτηση με συμπιεστική οστεοσύνθεση και διακαταγματική συμπίεση<sup>10</sup> (διακαταγματικές βίδες ή πλάκες συμπίεσης).

Από τη δεκαετία του '40 ήταν ήδη γνωστό ότι, εάν τα κατεαγότα άκρα βρίσκονται σε άμεση επαφή και κάτω από συνθήκες απόλυτης σταθερότητας στην περιοχή του κατάγματος, είναι δυνατό, μετά από ένα λανθάνον χρονικό διάστημα, οστεώνες από το φλοιό να γεφυρώσουν τη γραμμή του κατάγματος (εικ.5 ). Με αυτό τον τρόπο επιτυγχάνεται μια ενδοοστική συρραφή με οστεώνες.

Στην πρωτογενή πύρωση πρέπει ο φλοιός από τη μια πλευρά να πωρωθεί με το φλοιό της απέναντι πλευράς. Έτσι, οστεοκλάστες από την ίδια πλευρά απορροφούν



Εικ. 5. Πρωτογενής πύρωση. Άμεση γεφύρωση της γραμμής του κατάγματος από οστεώνες.



Εικ. 6. Πρωτογενής πύρωση. Σχηματικό διάγραμμα και ιστολογικό παρασκεύασμα των κωνικών ρηγμάτων (cutting cones) που δημιουργούνται από τους οστεοκλάστες.

οστούν και προχωρούν κάθετα στην εστία του κατάγματος, δημιουργώντας κωνικά ρήγματα (cutting cones, εικ.5,6 ), τα οποία χρησιμεύουν σαν δίοδοι για τη διείσδυση νεόπλαστων αγγείων που αργότερα μεταφέρουν ενδοθηλιακά και αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα. Η τελική διαφοροποίηση των τελευταίων είναι οι οστεοβλάστες.

Στην πραγματικότητα τα κατεαγότα άκρα δεν ευρίσκονται ποτέ σε πλήρη άμεση επαφή, ακόμα και μετά από χειρουργική ανατομική ανάταξη. Λόγω του ότι οι επιφάνειες είναι ανώμαλες μετά από την ανάταξη,



υπάρχουν περιοχές άμεσης επαφής και περιοχές όπου μεταξύ των κατεαγόντων άκρων υπάρχει κενό. Εάν αυτό το κενό δεν είναι μεγαλύτερο από 2mm περίπου, υπάρχει η δυνατότητα γεφύρωσης με οστεώνες, αφού πρώτα μεσολαβήσει ένα στάδιο αιματώματος και σχηματισμού οστεώνων, παράλληλα προς την καταγματική γραμμή<sup>1</sup>.

Η πρωτογενής πύρωση είναι βραδείας εξέλιξης και γίνεται χωρίς το σχηματισμό εξωτερικού πύρου, γι' αυτό η μηχανική αντοχή της περιοχής του κατάγματος είναι για μεγάλο χρονικό διάστημα μειονεκτική και βασίζεται στη μηχανική επάρκεια των υλικών οστεοσύνθεσης.

### Δευτερογενής πύρωση (secondary bone healing)

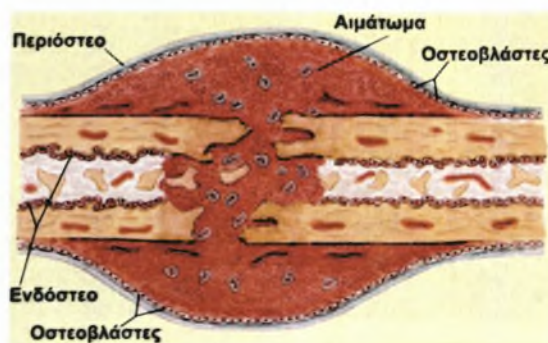
Η πύρωση ενός κατάγματος, όπου τα κατεαγόντα άκρα σταθεροποιούνται με το σχηματισμό εξωτερικού και αργότερα ενδομυελικού πύρου και ιστολογικά ακολουθεί την εξέλιξη της ενδοχόνδρινης και ενδομεμβρανώδους οστεογένεσεως, ονομάζεται δευτερογενής. Πρόκειται για μια διεργασία, η οποία εξελίσσεται κάτω από συνθήκες μη απόλυτης σταθερότητας. Αυτό συμβαίνει όταν μετά από συντηρητική ή χειρουργική αντιμετώπιση του κατάγματος (εφαρμογή γύψινου επιδέσμου, ενδομυελική ήλωση,

εξωτερική οστεοσύνθεση, οστεοσύνθεση με πλάκα γεφύρωσης), εξακολουθεί να υπάρχει κάποιος βαθμός κίνησης στην περιοχή του κατάγματος.

Σ' ένα κατάγμα μακρού αυλοειδούς οστού που δεν έχει συγκρατηθεί στερεά (σχετική αστάθεια), παρατηρούνται 4 εξελικτικά στάδια πωρώσεως και 4 τύποι ιστικής αντιδράσεως. Τα εξελικτικά στάδια είναι τα ακόλουθα:

#### 1)Καταστροφή ιστών και αιμάτωμα.

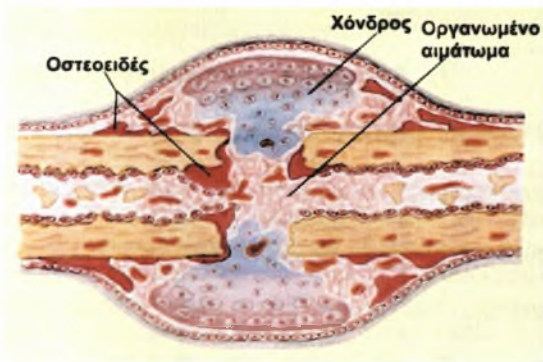
Στο στάδιο αυτό, μετά από ρήξη αγγείων και καταστροφή μαλακών μορίων, σχηματίζεται αιμάτωμα γύρω από την εστία του κατάγματος (εικ.7). Η αποκόλληση των μαλακών μορίων, σε συνδυασμό με τη διακοπή της συνέχειας της τροφοφόρου αρτηρίας, προκαλούν απαγγείωση και άλλοτε άλλου βαθμού νέκρωση των οστικών άκρων. Εάν η βαρύτητα της απαγγειώσεως είναι μεγάλη, όπως σε συντριπτικά κατάγματα υψηλής ενέργειας, η εξέλιξη του φαινομένου της πύρωσης θα επηρεαστεί αρνητικά.



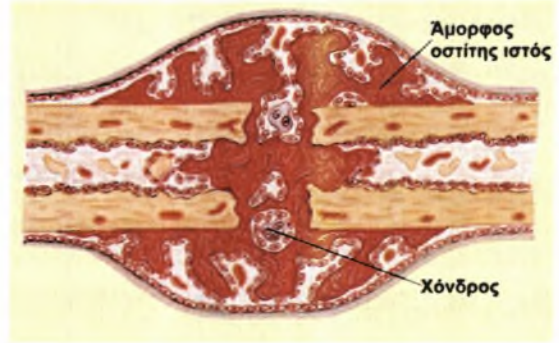
Εικ. 7. Δημιουργία αιματώματος άμεσως μετά την κάκωση και νέκρωση οστικών άκρων.

2) Στάδιο φλεγμονώδους αντίδρασης και κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Εδώ παρατηρείται οξεία φλεγμονώδης αντίδραση στην εστία του κατάγματος με συνάθροιση, στο μυελικό αυλό και στην περιοχή του αιματώματος αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων (mesenchymal stem cells, MSC). Τα κύτταρα αυτά πολλαπλασιάζονται και επάγουν τη λειτουργία τους με τελικό αποτέλεσμα τη διαφοροποίηση και μετατροπή τους σε οστεοβλάστες. Το κενό μεταξύ των κατεαγόντων οστικών άκρων γεφυρώνεται από κυτταρικό ιστό (εικ 8 ). Επίσης, παρατηρείται σχηματισμός νεοαγγείων που διεισδύουν στην περιοχή του κατάγματος.

3) Στάδιο επιδιορθώσεως. Σε αυτό το στάδιο ο κυτταρικός ιστός μεταξύ των κατεαγόντων άκρων μετατρέπεται σε ινώδη, μετά σε χονδρικό ιστό και τέλος αποτιμώνεται σχηματίζοντας άωρο, άμορφο οστί-



Εικ. 8. Νεοαγγειογένεση, εμφάνιση και πολλαπλασιασμός μεσεγχυματικών κυττάρων, χονδροβλαστών, οστεοβλαστών και αρχή σχηματισμού μαλακού πύρου.



Εικ. 9. Μετατροπή του οστεοειδούς και του χόνδρου σε άωρο, άμορφο οστίτη ιστό.

τη ιστό (εικ.9 ). Η προοδευτική σταθεροποίηση της περιοχής του κατάγματος έχει άμεση σχέση με τη μετατροπή του ινώδους ιστού σε χονδρικό και στη συνέχεια σε οστίτη ιστό. Ο ινώδης ιστός είναι ανθεκτικός σε σχετική μικροκίνηση, ενώ ο οστίτης για να αναπτυχθεί, έχει ανάγκη από μεγάλη σταθερότητα. Αν σ' αυτό το στάδιο για κάποιο εξωγενή λόγο (επανάληψη χειρισμών ανάταξης) διαταραχθεί η σχετική σταθερότητα, τότε η εξέλιξη της πύρωσης μπορεί να επηρεασθεί αρνητικά. Η ολοκλήρωση του σταδίου αυτού γίνεται σε 4-6 μήνες μετά από το κάταγμα.

4) Στάδιο οστικής ανακατασκευής. Ανάλογα με το οστό που υπέστη το κάταγμα, το στάδιο αυτό μπορεί να διαρκέσει και μακρό χρονικό διάστημα (5-10έτη)<sup>1</sup> . Κατά τη διάρκεια αυτού γίνεται προοδευτική αντικατάσταση του άωρου και άμορφου οστίτη ιστού με ώριμο πεταλιώδες οστό (εικ.10 ). Η αντικατάσταση αυτή γίνεται με τη διεργα-





Εικ. 10. Οστεοκλαστική και οστεοβλαστική δραστηριότητα μετατρέπουν τον άμορφο οστίτη υπό σε ώριμο πεταλωδες οστόν.

σία της οστικής ανακατασκευής (bone remodeling), η οποία ισοδυναμεί με οστεοκλαστική και οστεοβλαστική κυτταρική δραστηριότητα. Σκοπός της όλης διεργασίας είναι η πλήρη αποκατάσταση της αρχιτεκτονικής και της μηχανικής αντοχής του οστού.

Όπως αναφέρεται και στην αρχή του παρόντος κεφαλαίου, τέσσερις περιοχές στην εστία του κατάγματος απαντούν στην κάκωση, συμβάλλοντας η κάθε μια με τον τρόπο της στην πώρωσή του. Οι 4 τύποι ιστικής αντιδράσεως είναι οι ακόλουθοι:

**1) Περιοστική αντίδραση.** Αποτελεί ίσως την πιο σημαντική αντίδραση στην πώρωση των καταγμάτων. Οστεοπρόδρομα και αδιαφοροποίητα μεσεγχυματικά κύτταρα συνεισφέρουν στη διεργασία της πώρωσης σχηματίζοντας οστόν με ενδομεμβρανώδη οστεοποίηση. Η αντίδραση του περιοστέου προάγεται από την κίνηση και αναστέλλεται από την άκαμπτη (rigid) οστεοσύνθεση<sup>10</sup>. Φαίνεται ότι εξελίσσεται ταχέως και είναι

ικανή να γεφυρώσει κενά μεγέθους όσο το μισό της διαμέτρου του οστού.

**2) Αντίδραση εξωτερικών μαλακών μορίων.** Είναι επίσης σημαντική για τη διεργασία της πώρωσης, εμπλέκοντας ταχεία κυτταρική δραστηριότητα με σχηματισμό πρώιμου πώρου που γεφυρώνει και σταθεροποιεί τα κατεαγότα άκρα. Εξαρτάται άμεσα από μηχανικούς παράγοντες (κίνηση) στην περιοχή του κατάγματος και είναι δυνατό να ανασταλεί μετά από πλήρη ακινητοποίηση των κατεαγόντων άκρων με σταθερή εσωτερική οστεοσύνθεση (rigid internal fixation). Τα εξωτερικά μαλακά μόρια αποτελούν πηγή προσφοράς αδιαφοροποίητων μεσεγχυματικών κυττάρων, τα οποία οργανώνονται, πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται σε κύτταρα που σχηματίζουν χόνδρο. Ο πώρος συνεπώς που αναπτύσσεται, είναι προϊόν ενδοχόνδρινης οστεοποίησης.

**3) Αντίδραση του μυελικού αυλού.** Μέσα σε μερικές ώρες μετά το κάταγμα η φυσιολογική αρχιτεκτονική των στοιχείων που συγκροτούν το μυελό των οστών καταργείται, τα παρακείμενα του κατάγματος αγγεία θρομβώνονται και τα κύτταρα του μυελού οργανώνονται σε περιοχές υψηλής και χαμηλής κυτταρικής πυκνότητας. Στις περιοχές υψηλής πυκνότητας εμφανίζεται μετασχηματισμός των ενδοθηλιακών κυττά-

ρων στα λεγόμενα πολυμορφικά κύτταρα. Μετά 24 ώρες από την εμφάνιση του κατάγματος τα κύτταρα αυτά εκδηλώνουν οστεοβλαστικό φαινότυπο και αρχίζουν να παράγουν οστούν<sup>11</sup> με σκοπό την ενδομυελική γεφύρωση των κατεαγόντων άκρων. Μελέτες, όπως αυτή του McKibbin<sup>10</sup>, συνιστούν ότι η συμβολή του μυελού των οστών στην πώρωση είναι μικρή και ότι η αντίδραση των κυττάρων του αργεί να εκδηλωθεί. Η δραστηριότητα του μυελού των οστών είναι ανεξάρτητη από τις μηχανικές συνθήκες.

4). Αντίδραση του φλοιού. Είναι λιγότερο αξιόπιστη, απαιτεί πλήρη ακινητοποίηση και επαφή των κατεαγόντων οστικών άκρων και είναι υπεύθυνη για τη γεφύρωση του κατάγματος με οστεώνες, διεργασία που αφορά την πρωτογενή πώρωση.

Τόσο η πρωτογενής, όσο και η δευτερογενής πώρωση αποτελούν δυο απόλυτα φυσιολογικά φαινόμενα.

### Βιοχημεία της Πώρωσης

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία πριν από την εποχή της μοριακής βιολογίας, η συνεισφορά του αρχικού αιματώματος στην εστία του κατάγματος συνίστατο στην ανάπτυξη ενός ινώδους ικρίωματος προκειμένου να εξασφαλιστεί πρώιμη μηχανική σταθερότητα.

Σήμερα, είναι πλέον γενικά αποδεκτό ότι το αιμάτωμα που δημιουργείται στην περιοχή του κατάγματος αποτελεί σημαντική πηγή μορίων, τα οποία με τα σήματα που εκλύουν, έχουν τη δυνατότητα ενεργοποίησης και διέγερσης του καταρράκτη των αντιδράσεων που είναι σημαντικές στην πορεία της πώρωσης<sup>12</sup>.

Τα φλεγμονώδη κύτταρα (μακροφάγα, μονοκύτταρα) εκκρίνουν κυτοκίνες, όπως ιντερλευκίνη-1 και -6 (IL-1, IL-6), οι οποίες παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των πρώιμων σταδίων της πώρωσης. Τοπικά, η IL-1 αυξάνει τα επίπεδα των προσταγλανδινών PGE<sub>1</sub>, PGE<sub>2</sub> από τους παρακείμενους μυς<sup>13</sup>. In vitro, η PGE<sub>2</sub> έχει μόνο οστεοαπορροφητικές ικανότητες<sup>14</sup>. Η έστω σε μικρό βαθμό in vivo απορρόφηση των νεκρωμένων οστικών κατεαγόντων άκρων αποτελεί προϋπόθεση για τη δημιουργία νέου οστού<sup>15,16</sup>. Η ανασταλτική δράση στην οστεογένεση, που εμφανίζεται μετά από χορήγηση ινδομεθακίνης<sup>17,18,19</sup> (ισχυρός αναστολέας έκλυσης προσταγλανδινών) είναι απόδειξη ότι οι προσταγλανδίνες έχουν σαφώς θετική επίδραση στην πώρωση των καταγμάτων.

Επιπρόσθετα, τα αιμοπετάλια του θρόμβου εκλύουν μόρια όπως TGF-β, PDGF, aFGF, bFGF και BMPs<sup>20,21,22,23</sup> (για την επεξήγηση των συντομογραφιών βλέπε

παρακάτω στην ενότητα των αυξητικών παραγόντων), τα οποία είναι σημαντικά για τη χημειοταξία, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των πολυδύναμων μεσεγχοματικών κυττάρων<sup>24,25,26</sup>. Μελέτες που χρησιμοποιούν ραδιοσημασμένο DNA αποδεικνύουν ότι η μέγιστη συγκέντρωση και πολλαπλασιασμός των μεσεγχοματικών κυττάρων συμβαίνει την 3<sup>η</sup> ημέρα μετά από το κατάγμα<sup>24</sup>. Πιθανόν οι πιο πάνω αναφερθείσες ουσίες να συμβάλλουν και στην αγγειογένεση. Γεγονός είναι πάντως ότι η κύρια δράση τους εστιάζεται στη διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγχοματικών κυττάρων που αποτελεί το πρώτο βήμα για τη δημιουργία χόνδρου και τελικά οστού. Αποτυχία στη φάση αυτή θα έχει ως αποτέλεσμα τη μη δημιουργία οστού και τελικά το σχηματισμό ψευδάρθρωσης.

Σύμφωνα με τον McKibbin<sup>10</sup>, πώρος δημιουργείται από δυο πηγές κυττάρων. Η πρώτη εδρεύει στο περίοστεο και σχηματίζει οστού με ενδομεμβρανώδη οστεοποίηση (σκληρός πώρος), ενώ η δεύτερη σχηματίζει οστού με ενδοχόνδρινη οστεοποίηση από κύτταρα που εδρεύουν στο μυελό, περίοστεο και μαλακά μόρια (μαλακός πώρος). Το τελευταίο είναι αυτό που θα γεφυρώσει τελικά το κατάγμα και όχι ο σκληρός πώρος, ο οποίος σχηματίζει τα όρια πάνω στα οποία θα πορευθεί ο μαλακός, προσφέ-

ροντας παράλληλα και μια αρχική μηχανική σταθεροποίηση.

Κατά τη διάρκεια της ενδοχόνδρινης οστεοποίησης, πρωτεογλυκάνες εκκρίνονται στη μεσοκυττάρια ουσία του πώρου ιδιαίτερα τις δυο πρώτες εβδομάδες. Την τρίτη εβδομάδα, η ποσότητα των πρωτεογλυκανών και των συμπλόκων τους μειώνεται και αρχίζει η επιμετάλλωση του πώρου. Κολλαγενάση, ζελατινάση και στρωματολυσίνη είναι ένζυμα τα οποία αποσπούν συστατικά της μεσοκυττάριας ουσίας προετοιμάζοντας την επασβέστωση του πώρου.

Η ιστοχημική εντόπιση του ασβεστίου στον πώρο υποδηλώνει ότι τα μιτοχόνδρια παίζουν σημαντικό ρόλο στην επασβέστωση της μεσοκυττάριας ουσίας του αρχικά χόνδρινου πώρου<sup>27</sup>. Τα ενδοκυττάρια αυτά οργάνωσια πιθανόν λειτουργούν σαν αποθήκες ασβεστίου στα χονδροκύτταρα του πώρου. Καθώς προοδευτικά προχωρά η επασβέστωση του χόνδρινου υποστρώματος, τα μιτοχόνδρια αποβάλλουν όλο και περισσότερες ποσότητες ασβεστίου.

Περίπου 9 ημέρες μετά το κατάγμα, παρατηρείται άφθονη παραγωγή κολλαγόνου τύπου II, η κύρια δομική πρωτεΐνη του χόνδρου, από τα πολλαπλασιαζόμενα χονδροκύτταρα στο μαλακό πώρο και στο περίοστεο. Τη 14<sup>η</sup> ημέρα μετά το κατάγμα, η έκφραση του mRNA στα χονδροκύτταρα για



το σχηματισμό κολλαγόνου τύπου II μειώνεται σημαντικά. Ακολουθεί υπερτροφία όλων σχεδόν των χονδροκυττάρων, η παραγωγή χόνδρου τερματίζεται και αρχίζει η προετοιμασία της μεσοκυττάριας ουσίας για τη μετάλλωσή της. Τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα (και αργότερα οι οστεοβλάστες) περιέχουν στη μεμβράνη τους κυστικά σωματίδια με ουδέτερες πρωτεάσες και αλκαλική φωσφατάση, ένζυμα τα οποία απελευθερώνουν στη μεσοκυττάρια ουσία<sup>28</sup> και που ελαττώνουν τις πρωτεογλυκάνες, προετοιμάζοντάς την για τη μετάλλωση.

Η συγκέντρωση της αλκαλικής φωσφατάσης κορυφώνεται τη 17<sup>η</sup> ημέρα μετά από το κάταγμα, ενώ παράλληλα τα κύτταρα του πύρου αρχίζουν να παράγουν κολλαγόνου τύπου I, το προεξάρχον κολλαγόνο του οστίτη ιστού, διατασσόμενα έτσι, που να αφήνουν μεταξύ τους διαστήματα (hole zones) για την εναπόθεση των αλάτων ασβεστίου<sup>29</sup>. Τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα που περικλείονται από ασβεστοποιημένη μεσοκυττάρια ουσία, υφίστανται κυτταροπλασματική εκφύλιση, απόπτωση, Lee et al.<sup>30</sup>, και αντικαθίστανται από οστεοβλάστες.

Οι ήσσονος σημασίας τύποι κολλαγόνου (III, V, και XI) παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στη διεργασία της πώρωσης. Κολλαγόνο τύπου III, το οποίο παράγεται

από ινοβλάστες, ανευρίσκεται κατά μήκος της επιφάνειας του περισστέου παίζοντας το ρόλο υποστρώματος για την εγκατάσταση των προγονικών οστεοπαραγωγών κυττάρων και την ανάπτυξη των νεοσχηματισθέντων τριχοειδών. Κολλαγόνο τύπου V ανευρίσκεται σε περιοχές σχηματισμού ινώδους ιστού, τόσο στο μαλακό, όσο και στο σκληρό πύρο και σχετίζεται με τη νεοαγγειογένεση, παραμένει δε και κατά τη διάρκεια του σταδίου της οστικής ανακατασκευής. Οι πιο υψηλές συγκεντρώσεις του ανιχνεύονται στον υποπερισστικό σχηματιζόμενο πύρο, όπου επισυμβαίνει ενδομεμβρανώδης οστεοποίηση. Οι τύποι κολλαγόνου V και XI, όπως έχει προταθεί, ρυθμίζουν την παραγωγή και τον προσανατολισμό του κολλαγόνου I και II<sup>31,32</sup>. Επίσης, κολλαγόνο τύπου IX έχει εντοπιστεί στην επιφάνεια των ινιδίων κολλαγόνου τύπου II και πιστεύεται ότι συνεισφέρει στη μηχανική σταθερότητα του πλαισίου που συγκροτούν τα ινίδια αυτά.

Τρεις μη κολλαγονικές πρωτεΐνες της μεσοκυττάριας ουσίας, η οστεονεκτίνη, η οστεοποντίνη και η οστεοκαλσίνη εμπλέκονται στη διεργασία της πώρωσης. Από αυτές, καλύτερα έχουν μελετηθεί η δράση της οστεονεκτίνης και της οστεοκαλσίνης. Η οστεονεκτίνη αποκτά την κορυφαία της συγκέντρωση στο μαλακό πύρο την 9<sup>η</sup> ημέρα μετά το κάταγμα, Jinguishi et al.<sup>33</sup>,

και παραμένει παρατεταμένα υψηλή στο σκληρό πύρο από την 9<sup>η</sup> έως τη 15<sup>η</sup> ημέρα. Η πρωτεΐνη αυτή εμφανίζεται κατά την έναρξη τόσο της ενδομεμβρανώδους, όσο και της ενδοχόνδρινης οστεοποίησης, γεγονός που υποδηλώνει ότι πιθανόν παίζει σημαντικό ρόλο στα πρώιμα στάδια της οστεοποίησης.

Η οστεοκαλσίνη είναι μια ειδική για τα οστά, εξαρτώμενη από τη βιταμίνη Κ πρωτεΐνη, η οποία περιέχει πλευρικές αλυσίδες που επιτρέπουν τη σύνδεση ιόντων ασβεστίου και μορίων υδροξυαπατίτη. Παράγεται από τους οστεοβλάστες στον υποπεριοστικά σχηματιζόμενο από ενδομεμβρανώδη οστεοποίηση πύρο. Η έναρξη της εμφάνισης εκδηλώνεται μεταξύ της 9<sup>ης</sup> και 11<sup>ης</sup> ημέρας μετά από το κάταγμα και η συγκέντρωσή της κορυφώνεται περίπου τη 15<sup>η</sup> ημέρα. Η οστεοποντίνη είναι γνωστή για το ρόλο της στη σύνδεση μεταξύ των κυττάρων και ανιχνεύεται στα οστεοκύτταρα όπως και στα προγονικά οστεοπαραγωγά κύτταρα του σκληρού πύρου που σχηματίζεται υποπεριοστικά. Αυτή η πρωτεΐνη είναι επίσης γνωστό ότι αλληλεπιδρά με την CD44 γλυκοπρωτεΐνη της επιφάνειας των πολυδύναμων κυττάρων, η οποία συνδέεται με το υαλουρονικό οξύ, το κολλαγόνο τύπου I και τη φιμπρονεκτίνη.

### Εμβιομηχανική της Πώρωσης

Ο οστίτης ιστός κατέχει μια μοναδική ιδιότητα προς επούλωση, αποκαθιστώντας την αρχική του δυνατότητα να επιδέχεται φόρτιση, μέσα σε χρονικό διάστημα εβδομάδων ή μηνών. Παρόλα αυτά, η διεργασία της επούλωσης, η πώρωση, επηρεάζεται από το μηχανικό περιβάλλον στην περιοχή του κατάγματος και είναι δυνατό να αποτύχει κάτω από δυσμενείς συνθήκες.

Οι μηχανικές ιδιότητες ενός κατάγματος, στο οποίο η πώρωση βρίσκεται υπό εξέλιξη, εξαρτώνται τόσο από την υφή, όσο και από τη γεωμετρία του πύρου. Η αποκατάσταση της αντοχής (strength) και της ακαμψίας (stiffness) εξαρτώνται από την ποσότητα του νεοσχηματιζόμενου οστού, το οποίο γεφυρώνει το κενό μεταξύ των κατεγρότων άκρων. Η σκληρότητα (hardness) του πύρου σχετίζεται άμεσα με την περιεκτικότητά του σε ασβέστιο<sup>34</sup> (εικ.11). Η αντοχή σε διάταση στην περιοχή του κατάγματος κατά τη διάρκεια του σχηματισμού και της εξέλιξης του πύρου είναι ανάλογη με το λόγο πύρος/φλοιώδες οστό<sup>35</sup> (εικ. 12). Η μεταβολή του πύρου από την ελαστική, χαμηλής ακαμψίας μορφή, στη μορφή του σκληρού ιστού με την ανάλογη "δραστική" ελαστικότητα εμφανίζεται σε σχετικά μικρό χρονικό διάστημα εξελισσόμενη μέσα σε 4 διακριτά στάδια.

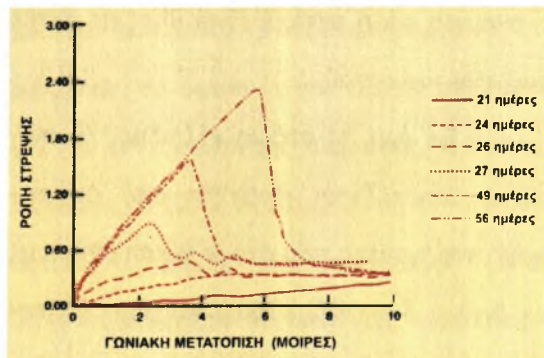


Εικ. 11. Μηχανική συμπεριφορά του πύρου μετά από συμπίεση (έκφραση σκληρότητας).

Σε μελέτη κατά την οποία χρησιμοποιήθηκε μοντέλο οστεοτομίας με εξωτερική οστεοσύνθεση σε κουνέλια, ο White et al.<sup>36,37,38,39</sup> προσπάθησε να συσχετίσει τα ακτινολογικά και ιστολογικά ευρήματα με τη στρεπτική ακαμψία και την αντοχή στη θραύση σε διαφορετικές χρονικές περιόδους μετά την πρόκληση του κατάγματος (εικ. 13). Η πρώτη ένδειξη αύξησης της ακαμψίας εμφανίστηκε μεταξύ 21<sup>ης</sup> και 24<sup>ης</sup> ημέρας από το κάταγμα. Στο στάδιο αυτό, το κάταγμα εμφανίζει ελαστικού τύπου συμπεριφορά και χαρακτηρίζεται από μεγάλες γωνίες εκτροπής, που



Εικ. 12. Αντοχή στη θραύση του πύρου μετά από διάταση.



Εικ. 13. Γωνιακή μετατόπιση οστεοτομιών σε μηρούς κουνελιών σε διάφορες χρονικές στιγμές της πύρωσης μετά από εφαρμογή ροπής στρέψης.

αντιστοιχούν σε χαμηλές τιμές της ροπής στρέψης. Το οστόν υφίσταται θραύση στην περιοχή του κατάγματος κατόπιν μικρής φόρτισης. Το στάδιο αυτό αντιστοιχεί στο γεφύρωμα του καταγματικού κενού από μαλακό ιστό.

Περίπου 27 ημέρες μετά από το κάταγμα παρατηρείται απότομη αύξηση της ακαμψίας η οποία αντιστοιχεί στο δεύτερο στάδιο όπου η θραύση εμφανίζεται στην εστία του κατάγματος σε χαμηλά επίπεδα φόρτισης. Η ακαμψία πλησιάζει αυτή του άθικτου φλοιώδους οστού.

Το τρίτο εμβιομηχανικό στάδιο χαρακτηρίζεται από μερική θραύση στην εστία του κατάγματος με ακαμψία παρόμοια με αυτή του φλοιώδους οστού, κάτω όμως από τη φυσιολογική του αντοχή. Το τελικό στάδιο επιτυγχάνεται όταν η περιοχή της θραύσης δε σχετίζεται με το κάταγμα, ενώ



η ακαμψία και η αντοχή είναι ίδιες με αυτές του άθικτου οστού.

Σε όλα τα στάδια εξέλιξης, η πύρωση επηρεάζεται ιδιαίτερα από μηχανικούς παράγοντες που έχουν άμεση σχέση με το βαθμό διακαταγματικής κίνησης (inter-fragmentary motion). Οι διάφορες μέθοδοι θεραπευτικής αντιμετώπισης ενός κατάγματος (ακινητοποίηση σε γύψο, εσωτερική ή εξωτερική οστεοσύνθεση) οδηγούν τα κατεαγότα οστικά τεμάχια σε άλλοτε άλλο βαθμό κίνησης υπό συνθήκες φόρτισης. Η κίνηση αυτή, κάτω από άγνωστους μηχανισμούς, καθορίζει τη μορφολογία του πύρου.

Μελέτες του Sarmiento<sup>40</sup> έδειξαν ότι η ελεγχόμενη φόρτιση επιδρά θετικά στην πορεία της πύρωσης. Μια άκαμπτη οστεοσύνθεση ελαχιστοποιεί τη διακαταγματική κίνηση και προκαλεί μικρότερο ερεθισμό του πύρου<sup>41</sup>, ενώ μια πιο ελαστική επιφέρει ευόδωση της πύρωσης μέσω του μεγαλύτερου μηχανικού ερεθισμού που προκαλεί<sup>42,43</sup>. Το μέγεθος του κενού μεταξύ των κατεαγόντων άκρων<sup>44</sup> (fracture gap) αποτελεί έναν ακόμη σημαντικό μηχανικό παράγοντα. Μικρά οστικά κενά είναι ωφέλιμα για την πύρωση, μεγαλύτερα έχουν αρνητικό αποτέλεσμα.

Η φύση της κυτταρικής απάντησης στην περιοχή του κατάγματος σχετίζεται επίσης άμεσα με το μηχανικό περιβάλλον

που επικρατεί στην ίδια περιοχή. Σε συνθήκες μηχανικής σταθερότητας και στενής επαφής μεταξύ των κατεαγόντων άκρων, ελαττώνεται σημαντικά ο σχηματισμός χόνδρου και τελικά παράγεται ένα λεπτό στρώμα σκληρού πύρου με απευθείας ανακατασκευή των Αβερσειών συστημάτων. Όταν επικρατεί περισσότερο ασταθές μηχανικό περιβάλλον, δεν είναι δυνατή η γεφύρωση του κατάγματος από σκληρό πύρο κατά τις πρώιμες φάσεις της πύρωσης, με αποτέλεσμα το σχηματισμό χόνδρινου (μαλακού) πύρου. Στη συνέχεια, και εφ' όσον υπάρχει επαρκής σταθερότητα, γίνεται μετασχηματισμός του χόνδρου σε οστόν με ενδοχόνδρινη οστεοποίηση.

Κατά τη διάρκεια μετάλλωσης του μαλακού πύρου, αν η ακινητοποίηση του κατάγματος εξακολουθεί να παραμένει ανεπαρκής, είναι δυνατή η δημιουργία ψευδάρθρωσης εξαιτίας της παραμονής ινώδους ιστού μεταξύ των κατεαγόντων άκρων και αδυναμίας μετασχηματισμού του ινοχόνδρινου πύρου σε φυσιολογικό οστόν. Το ίδιο μπορεί να συμβεί και στην περίπτωση υπέρμετρου διακαταγματικού κενού. Στο πλαίσιο αυτό έχουν γίνει αρκετές προσπάθειες ώστε να συσχετισθεί το είδος των δυνάμεων (μηχανικά φορτία) και η βιολογική ανταπόκριση στα πρώιμα στάδια της διεργασίας της πύρωσης ως προς το είδος του

ιστού που παράγεται (Πιν.1) . Στα αρχικά στάδια της πύρωσης η χαμηλή πίεση του οξυγόνου και οι διακοπτόμενες συμπιεστικές δυνάμεις έχουν θετικό αποτέλεσμα στη διαφοροποίηση των μεσεγγυματικών κυττάρων σε χονδροβλάστες, ενώ η υψηλή πίεση οξυγόνου και οι διατμητικές δυνάμεις οδηγούν σε δημιουργία ινώδους ιστού<sup>45</sup> .

Όλες αυτές οι θεωρίες δεν μπορούν να συσχετισθούν με την ακριβή κυτταρική δραστηριότητα. Χρειάζεται βαθύτερη κατανόηση της επίδρασης του μηχανικού περιβάλλοντος στις ενδοκυττάρειες λειτουργίες, οι οποίες κάνουν τα κύτταρα να ανταποκρίνονται με την παραγωγή ουσιών που δρουν ως διαμεσολαβητές και καθορίζουν την πορεία της πύρωσης.

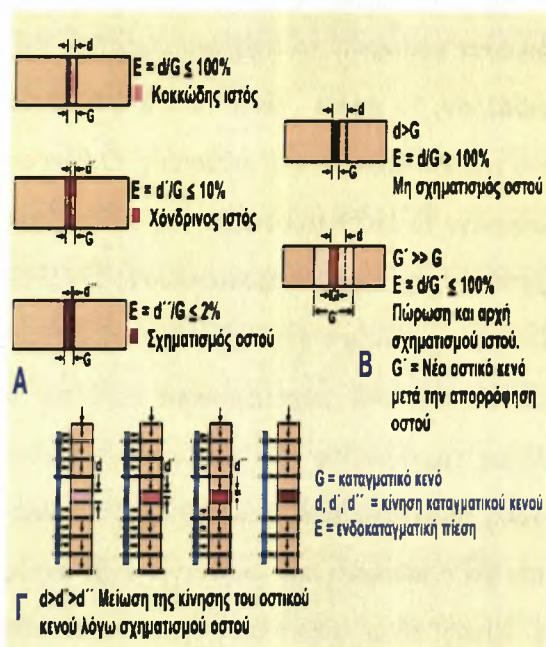
Σήμερα, οι περισσότερες γνώσεις μας προέρχονται από πειραματικές και κλινικές μελέτες που προσπαθούν να εξακρι-



Πιν. 1. Είδη ιστού που παράγονται ανάλογα με τον τύπο των μηχανικών φορτίων.

βώσουν εμπειρικά το ωφέλιμο μηχανικό περιβάλλον, το οποίο είναι τελικά υπεύθυνο για την επιτάχυνση της πύρωσης. Ο Perren εισήγαγε το 1979 τη θεωρία της ενδοκαταγματικής σχετικής παραμόρφωσης<sup>46</sup> (IFS, interfragmentary strain). Ως ενδοκαταγματική σχετική παραμόρφωση ορίζεται ο λόγος της κίνησης των κατεαγότων άκρων προς τη μεταξύ τους απόσταση και προβλέπει ότι η πύρωση επιτυγχάνεται όταν αυτός ο λόγος είναι μικρότερος (σε ποσοστιαία έκφραση) του 2% (εικ.14) . Άλλες μελέτες δείχνουν ότι και με μεγαλύτερες τιμές του IFS τα αποτελέσματα είναι εξίσου καλά<sup>42,43</sup> . Η θεωρία της ενδοκαταγματικής σχετικής παραμόρφωσης αναφέρεται μόνο σε αξονικές φορτίσεις κατά τον επιμήκη άξονα, χωρίς να λαμβάνει υπόψιν της την τρισδιάστατη έννοια της κίνησης.

Ο Claes et al.<sup>47</sup> σε πειραματική μελέτη οστεοτομίας μεταταρσίου σε ώριμα πρόβατα βρήκε με ιστολογική εξέταση και ανάλυση με πεπερασμένα στοιχεία ότι οι καλύτερες συνθήκες είναι με τιμή ενδοκαταγματικής σχετικής παραμόρφωσης 4% και κενό μεταξύ των κατεαγότων άκρων 2mm. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώθηκαν και σε άλλες μελέτες<sup>48,49,50</sup>, στις οποίες βρέθηκε ότι ο προσανατολισμός και η μιτωτική δραστηριότητα των κυττάρων στην περιοχή του



Εικ. 14. Η θεωρία της ενδοκαταγματικής σχετικής παραμόρφωσης του Perren. (Α) Μετασχηματισμός του οστού όταν η κίνηση των κατεαγόντων άκρων είναι μικρότερη από το σύνολο του καταγματικού κενού. (Β) Μετασχηματισμός του ιστού όταν η κίνηση είναι μεγαλύτερη από το σύνολο του καταγματικού κενού. (Γ) Η ίδια θεωρία κάτω από συνθήκες εξωτερικής οστεοσύνθεσης.

κατάγματος σχετίζονται με την ενδοκαταγματική σχετική παραμόρφωση. Συγκεκριμένα, όταν η τιμή της τελευταίας ξεπερνά το 4%, η συγκέντρωση και η μιτωτική δραστηριότητα των κυττάρων στην εστία του κατάγματος ελαττώνονται, γεγονός που υποδηλώνει ότι αυτές οι συνθήκες δεν είναι κατάλληλες για οστεοβλαστική δραστηριότητα. Προσπαθώντας να απαντήσει στο ερώτημα, ποιος είναι ο ιδανικός ρυθμός

εφαρμογής της ενδοκαταγματικής σχετικής παραμόρφωσης, ο Goodship et al.<sup>51</sup> διαπίστωσε σε πειραματική μελέτη σε πρόβατα ότι άμεση και σε υψηλό ρυθμό (40mm/sec) εφαρμογή ενδοκαταγματικής σχετικής παραμόρφωσης επιφέρει τα καλύτερα αποτελέσματα. Αντίθετα, όταν εφαρμόστηκε η ίδια ενδοκαταγματική σχετική παραμόρφωση μερικές εβδομάδες μετά ή άμεσα, αλλά σε χαμηλό ρυθμό (2mm/sec), τα αποτελέσματα δεν ήταν ικανοποιητικά.

Γίνεται αντιληπτό από όλα τα παραπάνω ότι το μηχανικό περιβάλλον στην περιοχή του κατάγματος σαφώς επηρεάζει την πώρωση με πολλούς τρόπους, δεν υπάρχει όμως ξεκάθαρη απόδειξη ποιος δρόμος μηχανικής παρέμβασης είναι ο καλύτερος. Αυτό θα γίνει εφικτό, μόνο όταν κατανοηθούν πλήρως οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ εμβιομηχανικής και βιολογίας με πειράματα που θα χρησιμοποιούν γενετικές τεχνικές, ώστε η ανάλυση του DNA να δείξει τις μεταβολές σε κυτταρικό επίπεδο.

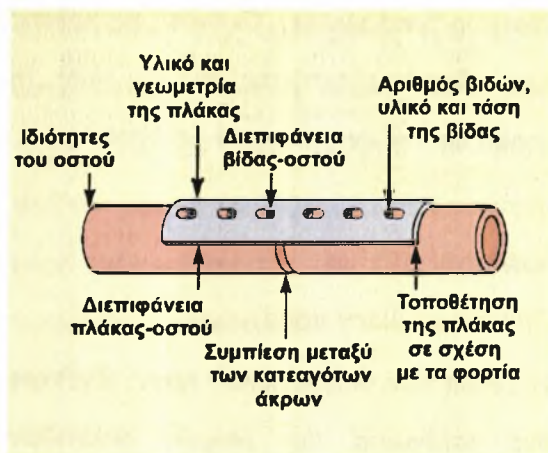


## Βιολογία και Εμβιομηχανική της Οστεοσύνθεσης των καταγμάτων

Όταν ένα κάταγμα είναι από τη φύση του σταθερό, όπως σε περιπτώσεις ενσφήνωσης των κατεαγόντων άκρων μεταξύ τους ή επαρκούς υποστήριξης από τα γύρω μαλακά μέρη, απαιτείται μικρή προσπάθεια έτσι ώστε να εξασφαλιστεί η μικρότερη δυνατή διακαταγματική κίνηση (interfragmentary motion). Ακινητοποίηση του κατάγματος με νάρθηκα ή κυκλοτερή γύψινη επίδεση μπορεί να αποτελεί τη μόνη θεραπευτική αντιμετώπιση. Παρόλα αυτά, πολλά κατάγματα απαιτούν εσωτερική ή εξωτερική οστεοσύνθεση προκειμένου να εξασφαλιστεί επιτυχής ανάταξη και σταθερή συγκράτηση μεταξύ των κατεαγόντων οστικών άκρων. Πολλές τεχνικές είναι σήμερα διαθέσιμες και πολλοί παράγοντες είναι σημαντικοί για την επιλογή της καλύτερης μεθόδου. Κάθε τύπος οστεοσύνθεσης προσδίδει στο κάταγμα ένα συγκεκριμένο επίπεδο σταθερότητας επηρεάζοντας άμεσα τη βιολογία της πώρωσης.

### Πλάκες (bone plates)

Διάφορες βασικές εμβιομηχανικές αρχές παίζουν ρόλο στην οστεοσύνθεση με πλάκες (εικ.15). Είναι πολύ σημαντικό να γίνει κατανοητό ότι το σύμπλεγμα πλάκας-οστού



Εικ. 15. Παράγοντες που επηρεάζουν τη σταθερότητα της οστεοσύνθεσης με πλάκα.

αποτελεί μια ενιαία μηχανική κατασκευή, στην οποία ένα μέρος των φορτίων κατανέμεται στην πλάκα, ενώ το υπόλοιπο περνά διαμέσου των κατεαγόντων οστικών τεμαχίων. Συνεπώς, μεταβολές στην πλάκα, το οστό ή στη διεπιφάνεια μεταξύ αυτών είναι ικανές να επηρεάσουν σημαντικά το μηχανικό περιβάλλον του κατάγματος καθορίζοντας με τον τρόπο αυτό τον τύπο της πώρωσης που θα επακολουθήσει (πρωτογενής ή δευτερογενής πώρωση).

Οι συνηθέστερα χρησιμοποιούμενες πλάκες διαφοροποιούνται μεταξύ τους ανάλογα με το εμβιομηχανικό αποτέλεσμα, το οποίο προσδίδουν στη διεργασία της πώρωσης. Έτσι, διακρίνονται σε πλάκες ουδετεροποίησης (neutralization), υποστήριξης (buttressing), συμπίεσης (compression), γεφυροποίησης (bridging) και σ' αυτές που λειτουργούν ως ταινία ελκυσμού

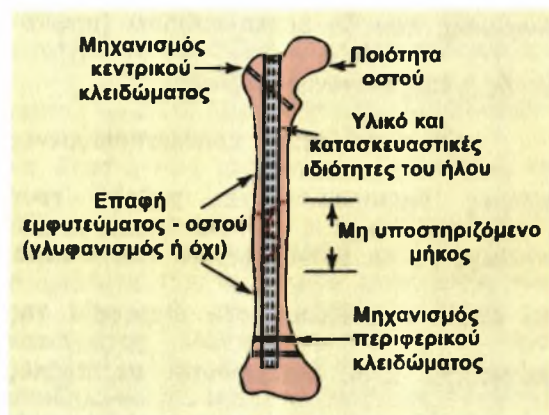
(tension band plates). Οι ενδείξεις χρήσης της καθεμιάς εξαρτώνται από τον τύπο, τη μορφή και την εντόπιση του κατάγματος.

### Ενδομυελικοί ήλοι

#### (intramedullary nails)

Η χρήση των ενδομυελικών ήλων, ιδιαίτερα στα κατάγματα των μακρών αυλοειδών οστών, έχει διάφορα πλεονεκτήματα όπως η αποκατάσταση του άξονα, η πρώιμη φόρτιση και τα χαμηλά ποσοστά ψευδάρθρωσης<sup>52</sup>. Οι ενδομυελικοί ήλοι σταθεροποιούν το κάταγμα λειτουργώντας ως εσωτερικοί νάρθηκες, σχηματίζοντας μια σύνθετη κατασκευή με το οστό, στην οποία ο επιμερισμός των μηχανικών φορτίων εξαρτάται από διάφορους παράγοντες (εικ. 16).

Η ενδομυελική ήλωση ως μέθοδος οστεοσύνθεσης εξασφαλίζει μικρότερη ακαμψία συγκριτικά με τη διακαταγματική



Εικ. 16. Σημαντικοί παράγοντες κατά την οστεοσύνθεση με ενδομυελικούς ήλους.

συμπίεση, χωρίς όμως να υστερεί στην αποτελεσματικότητά της, με δεδομένη τη σωστή εφαρμογή του ήλου. Εξαιτίας της αυξημένης κίνησης στην περιοχή του κατάγματος μετά από τη φόρτιση, παρατηρείται συνήθως ο σχηματισμός δευτερογενούς πύρου.

Τα βασικά μειονεκτήματα του συμβατικού (unlocked) ενδομυελικού ήλου είναι ότι προσφέρει περιορισμένη στροφική σταθερότητα στο κάταγμα και δεν είναι σε θέση να διατηρήσει το ανατομικό μήκος του οστού όταν πρόκειται για συντριπτικά κατάγματα. Τα μειονεκτήματα αυτά ξεπεράστηκαν με τον «κλειδούμενο» ή ασφαλιζόμενο ήλο (interlocking nail), ο οποίος είναι ένας συνδυασμός ήλου και κοχλιών που διαπερνούν τον ήλο και το οστό. Η τοποθέτηση του ήλου μπορεί να γίνει μετά από ανοικτή ή κλειστή ανάταξη του κατάγματος και σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματικότητά του παίζει ο γλυφανισμός (reaming) του αυλού ώστε να υπάρχει σταθερή επαφή ήλου - οστού σε όσο το δυνατόν μεγαλύτερο μήκος.

### Εξωτερική οστεοσύνθεση

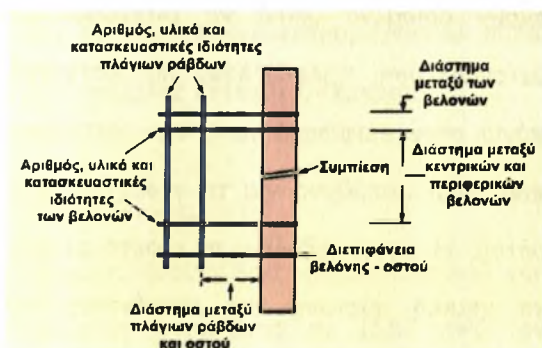
#### (external fixation)

Υπάρχουν διάφοροι τύποι εξωτερικής οστεοσύνθεσης, όλοι τους όμως στηρίζονται στην ίδια αρχή τοποθέτησης διοστικών



βελονών κεντρικά και περιφερικά της εστίας του κατάγματος που σταθεροποιούνται εξωτερικά με δακτυλίους ή ράβδους. Οι εξωτερικές ράβδοι σχηματίζουν πλαίσιο, μονόπλευρο ή αμφοτερόπλευρο, ενός ή δύο επιπέδων.

Η σταθερότητα που εξασφαλίζει μια συσκευή εξωτερικής οστεοσύνθεσης εξαρτάται τόσο από τη διάταξη του πλαισίου, όσο και από την αλληλεπίδραση μεταξύ πλαισίου και κατεαγόντων οστικών τεμαχίων (εικ. 17).



Εικ. 17. Παράγοντες που επηρεάζουν τη σταθερότητα του κατάγματος που έχει αντιμετωπιστεί με εξωτερική οστεοσύνθεση.

Ο Juan et al.<sup>53</sup> κατέδειξε ότι για διαφορετικούς τύπους συσκευών εξωτερικής οστεοσύνθεσης ο σχηματισμός πώρου εξαρτάται σημαντικά από τη σταθερότητα του κατάγματος. Οι Huiskes και Chao<sup>54</sup> διαπίστωσαν ότι η ακαμψία ενός συστήματος εξωτερικής οστεοσύνθεσης μπορεί να μεταβληθεί μετά από αλλαγές στη διάταξη του πλαισίου. Έτσι, παράγοντες που σχετίζονται με το υλικό, τη γεωμετρία και την τεχνική

τοποθέτησης ενός συστήματος εξωτερικής οστεοσύνθεσης, καθώς επίσης και η φορά των δυνάμεων που δέχεται το οστό, παίζουν ρόλο στην εμβιομηχανική συμπεριφορά ενός κατάγματος που έχει αντιμετωπιστεί με τη μέθοδο αυτή.

### Ευόδωση της Πώρωσης

Η πώρωση των καταγμάτων εμπλέκει μια αλληλουχία δυναμικών γεγονότων, τα οποία τελικά αποκαθιστούν την ακεραιότητα και τις μηχανικές ιδιότητες του οστού. Σε ορισμένες περιπτώσεις η διεργασία αυτή παραβλάπτεται οδηγώντας σε καθυστερημένη πώρωση ή ψευδάρθρωση. Τα αίτια που είναι υπεύθυνα για την πρόκληση των εν λόγω διαταραχών είναι συχνά αδιευκρίνιστα.

Λάθη κατά τη διάρκεια της χειρουργικής ή συντηρητικής αντιμετώπισης των καταγμάτων παραβλάπτουν τη φυσιολογική εξέλιξη της πώρωσης. Ανεπαρκής σταθεροποίηση του κατάγματος, υπερβολική διάταση των κατεαγόντων άκρων με συσκευές εξωτερικής οστεοσύνθεσης, επαναλαμβανόμενοι χειρισμοί, υπέρμετρη πρώιμη κινητοποίηση, εκσεσημασμένη αποκόλληση του περισστέου ή πρόκληση βλάβης στα πέριξ μαλακά μόρια είναι μερικά από τα λάθη αυτά. Καθυστερημένη πώρωση ή ψευδάρθρωση μπορεί επίσης να προκύψει, όταν ένα

κάταγμα επιμολυνθεί τη στιγμή του τραυματισμού ή κατά τη διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης. Επιπρόσθετα, ορισμένα τμήματα του σκελετού, όπως ο αυχένας του αστραγάλου, ο αυχένας του μηριαίου και το σκαφοειδές του καρπού, είναι γνωστά για τις επιπλοκές της πώρωσης που παρουσιάζουν και που σχετίζονται με τις ιδιομορφίες της αιμάτωσής τους.

Συνεπώς, παρόλο που τα περισσότερα κατάγματα πωρώνονται χωρίς διαταραχές, υπάρχουν συγκεκριμένες περιστάσεις κατά τις οποίες η ευόδωση της πώρωσης με διάφορα μέσα είναι απαραίτητη για την εξασφάλιση της λειτουργικής αποκατάστασης του σκελετού. Η γρήγορη επάνοδος των ασθενών στις εργασιακές και κοινωνικές τους υποχρεώσεις δεν έχει θετικό αντίκτυπο μόνο στον οικονομικό τομέα, αλλά και στην καλή φυσική και πνευματική κατάσταση του ίδιου του ασθενούς.

Στο σημείο αυτό, πριν από τη λεπτομερέστερη αναφορά στους τρόπους προαγωγής της πώρωσης, είναι απαραίτητη η εξήγηση ορισμένων όρων προκειμένου ο αναγνώστης να κατανοήσει τους πολύπλοκους μηχανισμούς που εμπλέκονται στο νεοσχηματισμό οστού. Ο όρος *οστεογένεση* (osteogenesis) αναφέρεται στο σχηματισμό οστού ανεξάρτητα από την προέλευση των κυττάρων, τα οποία είναι υπεύθυνα για τη

διεργασία αυτή. Όταν νέο οστό σχηματίζεται πάνω σε ένα μόσχευμα, είναι δυνατό να προέρχεται είτε από τυχόν επιζώντα κύτταρα του ίδιου του μοσχεύματος, είτε από κύτταρα της δέκτης περιοχής<sup>55</sup>. *Οστεοεπαγωγή* (osteoinduction) είναι η επιστράτευση αδιαφοροποίητων μεσεγχυματικών κυττάρων, τα οποία στη συνέχεια διαφοροποιούνται σε χονδροπαραγωγά και οστεοπαραγωγά κύτταρα. *Οστεοκαθοδήγηση* (osteosconduction) είναι η ιδιότητα που έχουν ορισμένα υλικά να ενισχύουν τη μετανάστευση, προσκόλληση και κατανομή πάνω στην επιφάνειά τους των κυττάρων που είναι υπεύθυνα για το νεοσχηματισμό οστού. Η οστεοκαθοδήγηση εξαρτάται από τη χημική σύσταση της επιφάνειας του εμφυτεύματος, από την τρισιδιάστατη αρχιτεκτονική του με ύπαρξη ή όχι πόρων και από το ρυθμό αποδόμησής του σε συνάρτηση με το χρόνο. Μπορεί να ειπωθεί ότι το εμφύτευμα λειτουργεί με τον τρόπο αυτό σαν ικρίωμα, πάνω στο οποίο σχηματίζεται και εναποτίθεται νέο οστόν.

Στις διάφορες μεθόδους ευόδωσης της πώρωσης, άλλες χρονολογούνται από παλιά με άλλοτε άλλο βαθμό κλινικής εφαρμογής και άλλες είναι νεότερες με κλινικά αποτελέσματα ακόμη υπό συζήτηση. Για πολλά χρόνια, η μέθοδος εκλογής για την αντιμετώπιση των ψευδαρθρώσεων και των

οστικών ελλειμμάτων ήταν, και εξακολουθεί ακόμα και σήμερα να είναι, η τοποθέτηση σπογγωδών οστικών αυτομοσχευμάτων. Τα τελευταία 30 χρόνια οι ερευνητές έχουν αναπτύξει εναλλακτικές θεραπείες χρησιμοποιώντας φυσικές ή βιολογικές μεθόδους. Στις βιολογικές μεθόδους περιλαμβάνονται τα οστικά μοσχεύματα, οι αυξητικοί παράγοντες, η γονιδιακή θεραπεία τα οστεοκαθοδηγητικά υλικά και τα οστεογενετικά υλικά. Στις φυσικές μεθόδους ανήκουν τα ηλεκτρικά-ηλεκτρομαγνητικά πεδία και οι χαμηλής έντασης υπέρηχοι.

### Οστικά μοσχεύματα

Η πρώτη προσπάθεια χρήσης οστικού μοσχεύματος αναφέρεται το 1682 από τον Ολλανδό χειρουργό Job Van Meek'eren<sup>56</sup>, ο οποίος χρησιμοποίησε τμήμα της διπλής από το κρανίο ενός σκύλου για να καλύψει οστικό έλλειμμα στο κρανίο ενός στρατιώτη.

Οι κύριες ενδείξεις για τη χρήση οστικών μοσχευμάτων είναι αφενός η ανάγκη πλήρωσης κάποιου υπάρχοντος οστικού ελλείμματος και αφετέρου, η προαγωγή σχηματισμού νέου οστού. Ανάλογα με την προέλευσή τους τα οστικά μοσχεύματα διακρίνονται σε: 1)αυτομοσχεύματα, τα οποία λαμβάνονται από τον ίδιο τον ασθενή και μπορεί να είναι αγγειούμενα ή μη, 2)ομοιομοσχεύματα, τα οποία λαμβάνονται από

ζώντα ή πτωματικό δότη του ιδίου φυσικού είδους και 3)ξеноμοσχεύματα, που προέρχονται από δότη άλλου φυσικού είδους.

Πιο συχνά χρησιμοποιούνται τα σπογγώδη και φλοιώδη οστικά αυτομοσχεύματα επειδή παρέχουν όλα εκείνα τα ουσιώδη στοιχεία για το σχηματισμό οστού όπως ζώντα οστεογενετικά κύτταρα, οστεοεπαγωγικές πρωτεΐνες που διεγείρουν την κυτταρική διαφοροποίηση και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, καθώς και ένα ικρίωμα υδροξυαπατίτη που υποστηρίζει το οστό που σχηματίζεται. Ήδη, από τη δεκαετία του '60 μελέτες του Burwell<sup>57</sup> έδειξαν ότι ο νεοσχηματισμός οστού μετά από την εμφύτευση του μοσχεύματος αποτελεί εκδήλωση των αρχέγονων οστεογενετικών κυττάρων, τα οποία επέζησαν κατά τη μεταμόσχευση και μετά από πολλαπλασιασμό σχημάτισαν ώριμους οστεοβλάστες. Τα σπογγώδη οστικά αυτομοσχεύματα είναι σήμερα το "gold standard", προάγοντας αποτελεσματικά την πύρωση σε περιπτώσεις σπονδυλοδεσίας, οστικού ελλείμματος ή κατάγματος<sup>3,58,59,60</sup>. Ωστόσο, η λήψη του μοσχεύματος είναι πολλές φορές περιορισμένη και οδηγεί σε αυξημένη νοσηρότητα της δότριας περιοχής με πόνο, αιμάτωμα ή λοίμωξη<sup>61,62</sup>.

Η αντίδραση της δέτριας περιοχής του σπογγώδους αυτομοσχεύματος εκλύεται σε πέντε, χρονικά συνεχόμενα στάδια, τα



οποία αλληλοεπικαλύπτονται μεταξύ τους. Αιμάτωμα και φλεγμονή αναπτύσσονται ταχέως μετά τη χειρουργική επέμβαση. Πολλά από τα μεταμοσχευθέντα κύτταρα αποθνήσκουν, κυρίως τα οστεοκύτταρα που βρίσκονται μέσα στο δοκιδικό σύστημα του σπογγώδους οστού, ενώ οι επιφανειακοί οστεοβλάστες παραμένουν ζωντανοί και αρχίζουν πρώιμα την παραγωγή οστού<sup>63</sup>. Λόγω της πορώδους υφής του σπογγώδους μοσχεύματος, αγγεία, οστεοβλάστες και πρόδρομες μορφές οστεοβλαστών από τη γύρω περιοχή διεισδύουν στο μόσχευμα από την περιφέρεια προς το κέντρο. Η διεργασία αυτή πραγματοποιείται πρώιμα μέσα στις δύο πρώτες μετεγχειρητικές ημέρες<sup>64</sup> και καθώς προχωρεί, οι οστεοβλάστες εναποθέτουν οστεοειδές, το οποίο τελικά περιβάλλει το κεντρικό τμήμα του νεκρού οστού. Ακολουθεί οστική ανακατασκευή, με απορρόφηση οστού λόγω αυξημένης οστεοκλαστικής δραστηριότητας και εναπόθεση νέου από τους οστεοβλάστες, διάρκειας μερικών μηνών. Το τελικό στάδιο είναι η πλήρης ενσωμάτωση του μοσχεύματος που αρχίζει έξι μήνες και συνήθως ολοκληρώνεται ένα χρόνο μετά από το χειρουργείο.

Τα φλοιώδη οστικά αυτομοσχεύματα υστερούν έναντι των σπογγωδών εξαιτίας της διαφορετικής βιολογικής τους συμπεριφοράς<sup>65</sup>. Η διαδικασία της νεοαγγείωσης

απαιτεί περισσότερο χρόνο λόγω έλλειψης πόρων στο φλοιώδες οστό με αποτέλεσμα να πρέπει να προηγηθεί περιφερική οστεοκλαστική δραστηριότητα και κατόπιν διείσδυση των αγγείων μέσα στους Αβέρσειους σωλήνες<sup>66</sup>. Επιπρόσθετα, η συγκέντρωση πρόδρομων μορφών οστεοβλαστών και μη οστεογενετικών αιμοποιητικών κυττάρων, τα οποία είναι υπεύθυνα για την τοπική παρακρινική διέγερση, είναι μικρότερη στο φλοιώδες οστό. Οι περιορισμοί αυτοί παρατείνουν το χρόνο ενσωμάτωσης των φλοιωδών μοσχευμάτων.

Τα αγγειούμενα οστικά φλοιώδη αυτομοσχεύματα άρουν τους παραπάνω περιορισμούς, επιτυγχάνοντας γρήγορη ενσωμάτωση με διατήρηση ζωντανού του μεγαλύτερου ποσοστού του κυτταρικού τους πληθυσμού. Όμως, η τεχνική λήψης και τοποθέτησής τους απαιτεί ιδιαίτερες γνώσεις και ικανότητα από το χειρουργό.

Οι παράγοντες που καθορίζουν την ενσωμάτωση του οστικού μοσχεύματος είναι το μηχανικό περιβάλλον και η επαφή μεταξύ του μοσχεύματος και του οστού της δέκτριας περιοχής. Μελέτες σε μοντέλα πειραματόζων<sup>67</sup> κατέδειξαν πλήρη ενσωμάτωση στις περιπτώσεις όπου είχε εξασφαλιστεί καλή επαφή και μηχανική σταθερότητα με χρήση πλακών συμπίεσης, ασχέτως αν επρόκειτο για αυτομοσχεύματα

ή ομοιομοσχεύματα. Αντίθετα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν κάτω από συνθήκες ασταθούς μηχανικού περιβάλλοντος<sup>68</sup>.

Η χρήση ομοιομοσχευμάτων ενέχει τον κίνδυνο μετάδοσης νοσημάτων που οφείλονται σε ιούς (HIV, hepatitis B,C). Οι κίνδυνοι αυτοί τείνουν να εξαλειφθούν με την επεξεργασία των μοσχευμάτων (βαθεία ψύξη, ακτινοβολία) και την αυστηρότερη επιλογή και εξέταση των δοτών.

### Αυξητικοί παράγοντες

Ποικίλες και ταχέως εξελισσόμενες διεργασίες ενεργοποιούνται μετά από τη δημιουργία κατάγματος σε ένα οστό με σκοπό τον περιορισμό της απώλειας αίματος και την έναρξη της μετανάστευσης κυττάρων στην περιοχή της βλάβης. Σύμφωνα με την τρέχουσα άποψη, οι διεργασίες αυτές ρυθμίζονται σε μεγάλο βαθμό από αυξητικούς παράγοντες (Πιν. 2), οι οποίοι είναι χαμηλού μοριακού βάρους γλυκοπρωτεΐνες, υπεύθυνες για τη μετανάστευση πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση ενός κατάλληλου πληθυσμού κυττάρων στην εστία του κατάγματος. Έτσι, οι αυξητικοί παράγοντες λειτουργούν σαν τοπικοί ρυθμιστές της κυτταρικής δραστηριότητας.

Τρεις τύποι δράσης των αυξητικών παραγόντων είναι δυνατοί<sup>69</sup>: 1)αυτοκρινική

### Αυξητικοί Παράγοντες (Growth Factors)

**PDGF:** Platelet Derived Growth Factor  
αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγων

**TGF-β:** Transforming Growth Factor-beta  
αυξητικός παράγων μετατροπής β

**IGF-I:** Insulin-like Growth Factor-I  
ινσουλινοειδής παράγων I

**IGF-II:** Insulin-like Growth Factor-II  
ινσουλινοειδής παράγων II

**aFGF:** acidic Fibroblast Growth Factor  
όξινο παράγων ανάπτυξης ινοβλαστών

**bFGF:** basic Fibroblast Growth Factor  
βασικός παράγων ανάπτυξης ινοβλαστών

**BMPs:** Bone Morphogenetic Proteins  
οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες

Πιν. 2. Οι κυριότεροι αυξητικοί παράγοντες

δράση, κατά την οποία ο αυξητικός παράγοντας επενεργεί στο ίδιο το κύτταρο που τον παράγει ή σε άλλα κύτταρα του αυτού φαινοτύπου (π.χ. αυξητικός παράγοντας παραγόμενος από οστεοβλάστες επηρεάζει τη λειτουργία άλλων οστεοβλαστών) 2)παρακρινική δράση, όπου ο αυξητικός παράγοντας επιδρά σε παρακείμενα κύτταρα διαφορετικού φαινοτύπου από το κύτταρο προέλευσης (π.χ αυξητικός παράγοντας παραγόμενος από οστεοβλάστες διεγείρει γειτονικά αδιαφοροποίητα κύτταρα προς διαφοροποίηση και 3)ενδοκρινική δράση, όταν ο αυξητικός παράγοντας επηρεάζει τη λειτουργία κυττάρων που βρίσκονται σε άλλη ανατομική θέση και είναι διαφορετικού φαινοτύπου από το κύτταρο προέλευσης (π.χ αυξητικός

παράγοντας που παράγεται από νευρικό ιστό στο ΚΝΣ διεγείρει την οστεοβλαστική δραστηριότητα).

Η βιολογική δράση των αυξητικών παραγόντων ασκείται μετά από τη σύνδεσή τους με υποδοχείς της μεμβράνης των κυττάρων-στόχων, η οποία έχει σαν αποτέλεσμα την ενδοκυτταρική ενεργοποίηση μιας συγκεκριμένης πρωτεϊνικής κινάσης. Η αντίδραση καταρράκτης που επακολουθεί κορυφώνεται με την ενεργοποίηση της μετεγγραφής ενός γονιδίου σε mRNA, το οποίο στη συνέχεια κωδικοποιεί το σχηματισμό πρωτεϊνών που έχουν ενδοκυτταρική ή εξωκυτταρική δράση<sup>70</sup> (εικ. 18).

Οι αυξητικοί παράγοντες φαίνεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στη διεργασία της πώρωσης αλληλεπιδρώντας τόσο με τοπικούς, όσο και με συστηματικούς ρυθμιστι-



Εικ. 18. Διαγραμματική απεικόνιση του μηχανισμού με τον οποίο οι αυξητικοί παράγοντες επιδρούν στη λειτουργία των κυττάρων.

κούς παράγοντες<sup>20,21,71,72</sup>. Επίσης, σε συνδυασμό με τις επικρατούσες συνθήκες του μικροπεριβάλλοντος, επηρεάζουν τα γονίδια που κωδικοποιούν το σχηματισμό συγκεκριμένου τύπου μεσοκυττάριας ουσίας. Έτσι, έχουν γίνει σημαντικό αντικείμενο έρευνας σε μια προσπάθεια εξεύρεσης νέων τρόπων ευόδωσης της πώρωσης.

Στις πηγές προέλευσης των αυξητικών παραγόντων περιλαμβάνονται τόσο ο θρόμβος, όσο και το ίδιο το οστό<sup>73</sup>. Κατά τη διάρκεια σχηματισμού του θρόμβου, τα αιμοπετάλια συσσωρεύονται και απελευθερώνουν έναν αριθμό ρυθμιστικών μορίων όπως PDGF και TGF-β. Το οστόν απελευθερώνει διάφορους αυξητικούς παράγοντες στην εστία του κατάγματος συμπεριλαμβανομένων των BMPs, TGF-β, PDGF, IGF-I, IGF-II, aFGF και bFGF. Ειδικά, η έκλυση των δύο τελευταίων φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην αρχική φάση της πώρωσης, προάγοντας την αγγειογένεση και τη μιτωτική δραστηριότητα της σειράς των οστεοβλαστών<sup>74</sup>.

Είναι γενικά αποδεκτό, ότι από τη στιγμή που αδιαφοροποιήτα κύτταρα διεισδύουν στο τραύμα, ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίησή τους καθορίζονται από τον τύπο και το επίπεδο συγκέντρωσης του καθενός αυξητικού παράγοντα που είναι παρών στην εστία του κατάγματος. Ιδιαί-

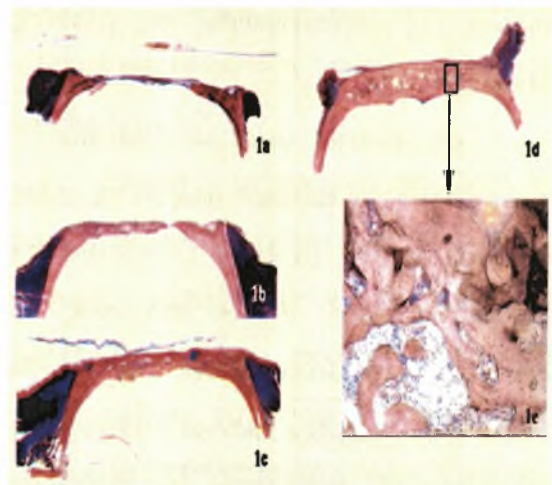


τερης σημασίας αποτελεί το γεγονός ότι οι BMPs είναι οι μόνοι γνωστοί παράγοντες που προκαλούν έκτοπο σχηματισμό οστού, διεγείροντας αδιαφοροποίητα μεσεγχυματικά κύτταρα προς διαφοροποίηση σε οστεοβλάστες. Είναι πολύ πιθανό ότι, μεγαλύτερη συγκέντρωση των αυξητικών παραγόντων σε περιοχές ένδειας, καθιστά εφικτή την επιτάχυνση της πώρωσης. Το γεγονός αυτό ώθησε έναν αριθμό ερευνητών να προτείνει τη συμπληρωματική εφαρμογή στην εστία της οστικής βλάβης οστεοκαθοδηγητικών υλικών εμπλουτισμένων με αυξητικούς παράγοντες. Τα διαθέσιμα δεδομένα που υπάρχουν στη βιβλιογραφία αφορούν κυρίως τη χρήση των BMPs.

Οι BMPs (BMP 1-7) ανακαλύφθηκαν το 1965 από τον Urist<sup>75</sup>, ο οποίος και κατέδειξε τις οστεοεπαγωγικές τους ιδιότητες. Πρόκειται για χαμηλού μοριακού βάρους μη κολλαγονικές γλυκοπρωτεΐνες που ανήκουν στην υπεροικογένεια των παραγόντων TGF- $\beta$ . Ευθύνονται για την έναρξη της ενδοχόνδρινης οστεοποίησης κυρίως με την επιστράτευση και τη διέγερση τοπικών πρόδρομων μορφών της οστεοβλαστικής σειράς, καθώς και για την ενίσχυση της σύνθεσης του κολλαγόνου. Ανευρίσκονται σε πολλούς ιστούς όπως είναι οι νεφροί, το περιφερικό και κεντρικό νευρικό σύστημα, η καρδιά και οι πνεύμονες.

Δυσνητικά, επιδρούν στη μορφογένεση και την ανάπτυξη και άλλων ιστών εκτός από τα οστά<sup>76</sup>. Σήμερα, μετά από εφαρμογή μεθόδων γενετικής μηχανικής, διατίθενται ανασυνδυασμένες μορφές BMPs (rhBMPs).

Η ικανότητα των BMPs για προαγωγή της πώρωσης έχει φανεί σε μελέτες που αφορούσαν μεγάλα οστικά ελλείμματα σε πειραματόζωα<sup>77,78</sup>. Η προσθήκη βόειας BMP σε κόκκους κοραλλίου για την κάλυψη σημαντικού μεγέθους κρανιακού ελλείμματος σε ποντικούς, με σύγχρονο εμπλουτισμό ή όχι με μυελό των οστών, οδήγησε σε νεοσχηματισμό οστού και αύξηση του πάχους του κρανίου<sup>79</sup> (εικ. 19).



Εικ. 19. Μικροφωτογραφίες μετά οκτώ εβδομάδες από την εφαρμογή BMP για την κάλυψη σημαντικού εύρους κρανιακού ελλείμματος σε ποντικούς. 1a το έλλειμμα αφέθηκε κενό και δεν έχει καλυφθεί 1b έχουν τοποθετηθεί μόνο κοράλλια. 1c κοράλλια και BMP. 1d επιπρόσθετος εμπλουτισμός με μυελό των οστών.

(*Biomaterials*, 20, 1910-1918, 1999)

Οι BMPs διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής εξέλιξης της πώρωσης των καταγμάτων. Με τη χρήση τεχνικών ανοσολογικής εντόπισης οι Bostrom *et. Al*<sup>80</sup> εντόπισαν BMP-2 και BMP-4 στον πύρο κατάγματος σε ποντικούς. Η μελέτη τους αποκάλυψε τη φυσιολογική παρουσία BMP στα τμήματα του πύρου που υφίστανται τόσο ενδοχόνδρινη, όσο και ενδομεμβρανώδη οστεοποίηση.

Κλινικές μελέτες που περιγράφουν τη χρήση των BMPs αφορούν κυρίως τη θεραπεία ψευδαρθρώσεων και τμηματικών οστικών ελλειμμάτων. Πρόσφατα, έχει αναφερθεί η εφαρμογή τους και στην αντιμετώπιση της οστεονέκρωσης της μηριαίας κεφαλής<sup>81</sup>.

Οι Johnson, Urist και Finerman<sup>82,83</sup> περιέγραψαν την εμπειρία τους με τη χρήση ανθρώπινης BMP (h-BMP). Ειδικότερα στη δεύτερη αναφορά, σε 24 από τους 25 ασθενείς με ψευδάρθρωση επετεύχθη πώρωση σε ένα μέσο χρονικό διάστημα της τάξης των έξι μηνών μετά την εμφύτευση του ομοιομοσχεύματος που ήταν εμπλουτισμένο με BMP. Πιο πρόσφατη κλινική εφαρμογή των BMPs από τους Johnson και Urist<sup>84</sup> στο μηρό 30 ασθενών (24 ψευδαρθρώσεις με βράχυνση του σκέλους, 4 χωρίς βράχυνση και 2 περιπτώσεις πώρωσης σε πλημμελή θέση) είχε τα ίδια αποτελέσματα.

Στις περιπτώσεις όπου το οστικό έλλειμμα ήταν μεγαλύτερο από 2cm χρησιμοποιήθηκε συμπληρωματικά και οστικό φλοιώδες αυτομόσχευμα.

Η χρήση ανασυνδυσμένων BMPs (rhBMPs) έρχεται να προσθέσει νέα δεδομένα στην ορθοπαιδική χειρουργική. Ο Riedel *et. Al*<sup>85</sup>, σε πρόδρομη προοπτική κλινική μελέτη, διαπίστωσε ότι μετά από εφαρμογή rh-BMP2 σε 12 ανοικτά κατάγματα κνήμης τύπου Gustilo II και άνω, πώρωση επετεύχθη στα 9 από αυτά χωρίς να απαιτηθεί περαιτέρω παρέμβαση. Σε μια άλλη προοπτική, τυφλή κλινική αξιολόγηση που αφορά τη θεραπεία ψευδάρθρωσης κνήμης σε 30 ασθενείς, ο Cook<sup>86</sup> δε βρήκε διαφορά στο χρόνο που χρειάστηκε για να ολοκληρωθεί η πώρωση μεταξύ της ομάδας ελέγχου και της ομάδας μάρτυρα. Στους ασθενείς εφαρμόστηκε ενδομυελικός ήλος μετά από γλυφανισμό και χρησιμοποιήθηκε rh-BMP7 ή οστικό αυτομόσχευμα (ομάδα ελέγχου και μάρτυρα αντίστοιχα) για την ευόδωση της πώρωσης.

Αν και πολλά υποσχόμενα, τα αποτελέσματα αυτά χρειάζονται περαιτέρω πιστοποίηση σε μεγαλύτερες σειρές ασθενών. Επιπρόσθετα, η δόση της rh-BMP που χρησιμοποιήθηκε στις παραπάνω κλινικές μελέτες ήταν αρκετά υψηλή (3,4-6,8mg) συγκρινόμενη με τη φυσιολογική συγκέντρωση του



οστού. Πιθανόν αυτό να είναι υπεύθυνο για την πυροδότηση μη προβλέψιμων τοπικών ή και συστηματικών αντιδράσεων.

### Γονιδιακή Θεραπεία (gene therapy)

Πολλές από τις παθολογικές καταστάσεις, που καλείται να αντιμετωπίσει ο ορθοπαιδικός χειρουργός, είναι επιδεκτικές στη θεραπεία με γονίδια. Ρήξεις τενόντων και συνδέσμων, χόνδρινες βλάβες, καθώς και η ρευματοειδής αρθρίτιδα είναι μερικές από αυτές<sup>87,88,89</sup>. Ένας άλλος τομέας, στον οποίο η γονιδιακή θεραπεία φιλοδοξεί να προσφέρει νέα δεδομένα, είναι η ευόδωση της πώρωσης. Η γονιδιακή θεραπεία, δυνητικά, πλεονεκτεί έναντι των άλλων μεθόδων οστεοεπαγωγής και η τρέχουσα έρευνα υποδεικνύει ότι στο εγγύς μέλλον θα είναι πλέον εφικτή η εφαρμογή της.

Η γονιδιακή θεραπεία συνίσταται σε μεταφορά γενετικής πληροφορίας στα κύτταρα. Όταν ένα γονίδιο μεταφέρεται κατάλληλα σ' ένα κύτταρο-στόχο, συμβαίνουν οι ακόλουθες βιολογικές διεργασίες. Το DNA του γονιδίου μετεγγράφεται σε mRNA, το οποίο με τη σειρά του μεταφράζεται και οδηγεί στη σύνθεση κάποιας πρωτεΐνης. Ανάλογα με τη δράση της πρωτεΐνης αυτής, το κύτταρο-στόχος μπορεί να διεγερθεί προς πολλαπλασιασμό, προς παραγωγή ενός συγκεκριμένου τύπου μεσοκυττάριας ουσίας,



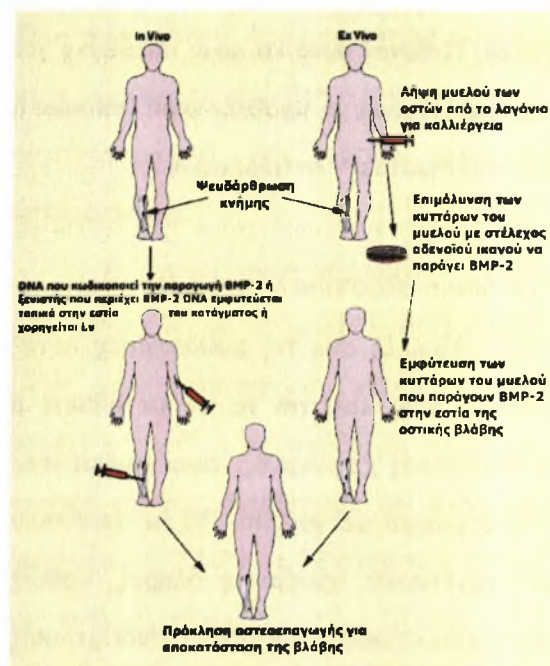
Εικ. 20. Γονιδιακή θεραπεία. Το DNA με τη βοήθεια του κατάλληλου φορέα διεισδύει στο κύτταρο-στόχο, μετεγγράφεται σε mRNA στον πυρήνα, ακολουθεί μετάφραση αυτού στα ριβοσώματα και το τελικό αποτέλεσμα είναι η παραγωγή και απελευθέρωση πρωτεϊνών.

ή αλλιώς να αλλάξει τη βιολογική του συμπεριφορά. Ο χρόνος που διαρκεί η πρωτεϊνوسύνθεση εξαρτάται από τη μέθοδο διείσδυσης του γονιδίου στο κύτταρο-στόχο, η οποία μέθοδος απαιτεί την ύπαρξη κάποιου φορέα-ξενιστή (vector) για αυτό το γονίδιο (εικ. 20).

Επειδή η μετεγγραφή του DNA θα πρέπει να είναι συνεχής και σε υψηλούς ρυθμούς, ενσωματώνεται στο σύμπλοκο φορέας-γονίδιο μια ορισμένη αλληλουχία νουκλεοτιδίων, τα οποία λειτουργούν ως "ενεργοποιητής" μπροστά από το "θεραπευτικό" DNA. Η έρευνα έχει δείξει επίσης, ότι είναι δυνατή η δημιουργία φορέων με ενεργοποιητές που είναι ειδικοί και κατευθύνουν την έκφραση των γονιδίων μόνο κάτω από ορισμένες συνθήκες, όπως παρουσία τετρακυκλίνης ή σε συγκεκριμένους ιστούς όπως είναι τα οστά<sup>90,91</sup>.

Η γονιδιακή θεραπεία μπορεί να εφαρμοστεί συστηματικά ή περιοχικά. Η ατελής οστεογένεση και η νόσος Gaucher είναι δύο παραδείγματα γενετικών νοσημάτων επιδεκτικών σε εφαρμογή γονιδιακής θεραπείας συστηματικά. Στις περιπτώσεις που απαιτείται προαγωγή του νεοσχηματισμού οστού (κατάγματα, ψευδαρθρώσεις, οστικά ελλείμματα) η περιοχική εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας καθιστά ευκολότερη και πιο αποτελεσματική τη μεταφορά του DNA στα κύτταρα-στόχους.

Η μεταφορά των γονιδίων, που επιλέγονται με βάση τους θεραπευτικούς στόχους, είναι δυνατό να γίνει είτε άμεσα στην εστία της βλάβης (*in vivo technique*), είτε μετά από προηγηθείσα καλλιέργεια (*ex vivo technique*). Κατά την *in vivo* τεχνική, μετά από την ενσωμάτωση του γονιδίου στον κατάλληλο φορέα, γίνεται άμεση εισαγωγή αυτού στον οργανισμό ενδοφλέβια ή τοπικά με την προσδοκία ότι θα καταλήξει στο κύτταρο-στόχο. Η *ex vivo* τεχνική συνίσταται σε λήψη κυττάρων από τον οργανισμό (μυελός των οστών), γενετικό χειρισμό και τροποποίησή τους σε καλλιέργεια ιστών με αποτέλεσμα την εισαγωγή του DNA εντός αυτών με τη χρήση κάποιου φορέα. Τα γενετικά τροποποιημένα κύτταρα εμφυτεύονται ακολούθως στην περιοχή της οστικής βλάβης (εικ. 21).



Εικ. 21. Διαφορετικές στρατηγικές εφαρμογής της γονιδιακής θεραπείας για την αντιμετώπιση ψευδάρθρωσης στην κνήμη.

Προκειμένου να επιτευχθεί η τροποποίηση της βιολογικής συμπεριφοράς του κυττάρου-στόχος, το εξωγενώς χορηγούμενο DNA πρέπει να διεισδύσει στο κύτταρο, να αποφύγει τον κατακερματισμό από τα λυσοσώματα και να εισέλθει στον πυρήνα όπου λαμβάνει χώρα η διεργασία της μετεγγραφής<sup>92</sup>. Οι φορείς είναι αυτοί που εξασφαλίζουν την είσοδο και την έκφραση του DNA στα κύτταρα-στόχος και μπορεί να ανήκουν στην κατηγορία των ιών ή όχι. Ο ιός-φορέας μπορεί να προέρχεται από την ομάδα των ρετροϊών, αδενοϊών ή από την ομάδα των ιών του απλού έρπητα. Το DNA μπορεί να είναι ενσωματωμένο στο χρωμό-

σωμα του ιού ή να παραμένει εξωχρωματωσωμικά (episomal). Στους μη ιϊκούς φορείς υπάγονται τα λιποσώματα και τα συμπλέγματα DNA-συνδέσμων, όπου οι σύνδεσμοι είναι ουσίες που έχουν την τάση να συνδέονται με υποδοχείς της επιφάνειας της κυτταρικής μεμβράνης.

Η ανατομική εντόπιση της βλάβης, η ποιότητα του οστού και τα πέριξ μαλακά μόρια είναι οι παράμετροι που καθορίζουν την επιλογή των κυττάρων στόχων για την εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας. Ειδικά για την *ex vivo* εφαρμογή είναι δυνατό να ληφθούν από τον ίδιο τον ασθενή κύτταρα του μυελού των οστών, μυοβλάστες ή ινοβλάστες του δέρματος, να καλλιεργηθούν και κατόπιν γενετικής τροποποίησης να επανεμφυτευθούν στην εστία της βλάβης.

Η αποτελεσματικότητα της χρήσης κυττάρων του μυελού των οστών και στελέχους αδενοϊού ως φορέα καταδεικνύεται σε πειραματική μελέτη<sup>93</sup> με ποντικούς, όπου κριτικού μεγέθους οστικό έλλειμμα στο μηρό (8mm) γεφυρώθηκε σε διάστημα δύο μηνών μετά από τοπική εμφύτευση κυττάρων του μυελού, γενετικά τροποποιημένων ώστε να παράγουν BMP-2. Ο Lee et. Al<sup>94</sup> επέλεξε τη χρήση αρχέγονων κυττάρων προερχόμενων από τους σκελετικούς μύες, τα οποία υπέστησαν γενετικό χειρισμό προς παραγωγή BMP-2 και στη συνέχεια χρησιμοποιή-

θηκαν για να καλύψουν οστικό κενό 4mm στο κρανίο θηλυκών ποντικών. Μετά από τέσσερις εβδομάδες διαπιστώθηκε άφθονος νεοσχηματισμός οστού και πλήρης γεφύρωση του ελλείμματος. Πρόσφατη πειραματική μελέτη ευόδωσης της σπονδυλοδεσίας σε μοντέλο ποντικού με τοπική εφαρμογή κυττάρων του μυελού των οστών ,τροποποιημένων ώστε να παράγουν BMP-7 και ενσωματωμένων σε ομοιομόσχευμα κατέδειξε ταχύτερη ακτινολογική και εμβιομηχανική αποκατάσταση στα ζώα της ομάδας θεραπείας συγκριτικά με την ομάδα μάρτυρα. Η μικροσκοπική εμφάνιση του νεοσχηματισθέντος οστού ήταν όμοια με αυτή του φυσιολογικού φλοιώδους οστού<sup>95</sup>.

### Οστεοκαθοδηγητικά υλικά

Το απαιτούμενο μέγεθος των πόρων ενός πορώδους εμφυτεύματος για το σχηματισμό οστού είναι 100-500μm<sup>96</sup>. Φυσικά και συνθετικά οστεοκαθοδηγητικά υλικά που έχουν τις πιο πάνω ιδιότητες, όπως τα κεραμικά του φωσφορικού ασβεστίου και τα κοράλλια, έχουν αναπτυχθεί και μελετηθεί σε διάφορα μοντέλα πειραματόζων τα τελευταία 30 έτη<sup>97</sup>. Οι περισσότερες έρευνες εστιάζονται στη χρήση κεραμικών με βάση το ασβέστιο. Τέτοια υλικά είναι ο υδροξυαπατίτης (HA), και η φωσφορική τριάσβεστος (TCP).



Ο υδροξυαπατίτης χρησιμοποιήθηκε αρχικά εξαιτίας της ομοιότητας του χημικού του τύπου με αυτόν του ανόργανου τμήματος των οστών. Ο ρυθμός απορρόφησης του φωσφορικού ασβεστίου των κεραμικών είναι αντιστρόφως ανάλογος της σχέσης  $Ca/P$  και εξαρτάται από την πυκνότητα, το μέγεθος και τη διάταξη των πόρων του βιοϋλικού. Η φωσφορική τριάσβεστος με λόγο  $Ca/P$  1,5 είναι περισσότερο απορροφήσιμη συγκριτικά με τον HA που έχει λόγο  $Ca/P$  1,67 και σχεδόν δε διασπάται, όταν εμφυτεύεται *in vivo*. Τα πορώδη διφασικά βιοϋλικά, στα οποία υπάρχει συνδυασμός HA και TCP (60% και 40% αντίστοιχα), έχουν έναν ενδιάμεσο βαθμό διάσπασης<sup>98</sup>.

Τα παραπάνω υλικά είναι πολύ καλά γνωστά για την άριστη δυνατότητα σύνδεσής τους με το οστό, είναι όμως εύθρυπτα και παρουσιάζουν φτωχή αντίσταση σε δυνάμεις συμπίεσης. Ο HA και η TCP έχουν ευρέως χρησιμοποιηθεί, τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε κλινικές μελέτες<sup>99,100</sup>, με καλά αποτελέσματα για τη θεραπεία μικρής έκτασης οστικών βλαβών, όταν η εμφύτευση γίνεται σε στενή επαφή με το οστό του δέκτη και η διεπιφάνεια μεταξύ εμφυτεύματος-οστού δεν εκτίθεται σε δυνάμεις διάτμησης. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και σε επεμβάσεις οπίσθιας σπονδυλοδεσίας. Σε προοπτική τυφλή κλινική μελέτη<sup>101</sup> ασθενών

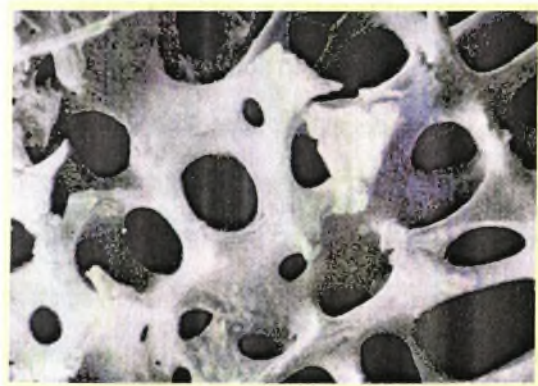
με ιδιοπαθή σκολίωση, οι οποίοι υπεβλήθησαν σε επέμβαση οπίσθιας σπονδυλοδεσίας, η εφαρμογή διφασικού βιοϋλικού (HA/TCP) είχε σαν αποτέλεσμα την ενσωμάτωσή του σε διάστημα 12 μηνών.

Πρόσφατα, διάφορα εργαστήρια ανέπτυξαν μια νέα μέθοδο, η οποία επιτρέπει το σχηματισμό HA *in situ*. Η βιοενεργής αλοιφή, δίκην οστικού τσιμέντου, παράγεται μετά από συνδυασμό δύο κεραμικών φωσφορικών και στερεοποιείται 10min μετά την τοποθέτηση. Σε πρόσφατη κλινική μελέτη<sup>102</sup>, όπου 110 κατάγματα τύπου Colles' αντιμετωπίστηκαν με τη χρήση του εν λόγω οστικού τσιμέντου και έγινε σύγκριση με τις συντηρητικές μεθόδους θεραπείας, οι ασθενείς είχαν καλύτερο λειτουργικό αποτέλεσμα και χαμηλότερο ποσοστό πύρωσης σε πλημμελή θέση. Όμως, το εν λόγω οστικό τσιμέντο στερείται πόρων, στους οποίους θα μπορούσε να εμφανιστεί κυτταρική ανάπτυξη, πράγμα σημαντικό για την αντιμετώπιση μεγαλύτερων οστικών ελλειμμάτων.

Το φυσικό κοράλλι έχει σαν κύριο συστατικό το ανθρακικό ασβέστιο ( $CaCO_3$ ) και πρωτοεμφανίστηκε σαν υποκατάστατο των οστικών μοσχευμάτων στα μέσα της δεκαετίας του '70<sup>103</sup>. Έχει άριστες μηχανικές ιδιότητες (αντίσταση σε περισσότερα από 300 Mpa) και μια ιδεώδη αρχιτεκτονική διάταξη των πόρων του παρόμοια με αυτή

του σπογγώδους οστού<sup>104</sup> (εικ. 22). Τα κοράλλια μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη φυσική τους μορφή<sup>105,106</sup> ή εναλλακτικά, το  $\text{CaCO}_3$  του φυσικού κοραλλιού μπορεί να μετασχηματιστεί σε HA με ειδική υδροθερμική αντίδραση κατά την οποία τα ιόντα του ασβεστίου παραμένουν σταθερά, ενώ οι ανθρακικές ρίζες αντικαθίστανται με φωσφορικές. Με τον τρόπο αυτό παραμένει αμετάβλητη η στερεοχημική δομή του υλικού και δεν αλλάζει η διάμετρος των πόρων του<sup>107</sup>.

Παρόλο που τα πιο πάνω περιγραφέντα υλικά έχουν πολύ καλές οστεοκαθοδηγητικές ιδιότητες, δεν έχουν αποδειχθεί κατάλληλα για την αντιμετώπιση εκτεταμένων οστικών βλαβών στην κλινική πράξη. Ο σχηματισμός οστού εμφανίζεται περισσότερο στην επιφάνεια και στα άκρα των υλικών αυτών, παρά στο εσωτερικό τους. Η ουσιαστική ενίσχυση του σχηματισμού νέου οστού



Εικ. 22. Μικροφωτογραφία της πορώδους δομής του κοραλλιού. Η αρχιτεκτονική διάταξη των πόρων είναι παρόμοια με αυτή του σπογγώδους οστού.

που είναι απαραίτητο για την πλήρωση ενός κλινικά σημαντικού οστικού ελλείμματος, επιτυγχάνεται μόνο με την προσθήκη μιας βιολογικά ενεργούς ουσίας, όπως είναι οι αυξητικοί παράγοντες και τα οστεογενετικά κύτταρα.

### Οστεογενετικά υλικά

Το αποτέλεσμα της οστεοεπαγωγής εξαρτάται από τη συγκέντρωση κυττάρων στην εστία της οστικής βλάβης, τα οποία μετά από πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση, είναι ικανά να παράγουν οστούν. Πρόκειται επομένως για κύτταρα που είναι υπεύθυνα για την οστεογένεση. Η προέλευση των κυττάρων αυτών είναι κυρίως από τα περιβάλλοντα μαλακά μόρια, γεγονός που δείχνει πόσο σημαντικός είναι ο ρόλος τους στη διεργασία επούλωσης.

Σε περιπτώσεις νέκρωσης, καθώς και σε μεγάλης έκτασης οστικές βλάβες όπου το υπόστρωμα του τραύματος είναι φτωχό σε οστεογενετικά κύτταρα, είναι απαραίτητη η εξωγενής χορήγησή τους. Έχει προταθεί λοιπόν η χρήση υλικών που είναι υποκατάστατα οστικών μοσχευμάτων, εμπλουτισμένα με οστεογενετικά κύτταρα, και ονομάζονται οστεογενετικά.

Ένας αριθμός ερευνητών χρησιμοποίησε αυτόλογο μυελό των οστών σε συν-

δυσασμό με οστεοκαθοδηγητικά υλικά για να ενισχύσει τη διεργασία σχηματισμού νέου οστού, επειδή ο μυελός των οστών περιέχει πρόδρομα οστεογενετικά κύτταρα<sup>108</sup>. Όμως, η ποσότητα του νεοσχηματιζόμενου οστού εξαρτάται ευθέως από τον αριθμό των μεταμοσχευθέντων κυττάρων, κάνοντας αναγκαία την ανάπτυξη τεχνικών ικανών ως προς τη σωστή επιλογή, λήψη και καλλιέργεια αυτών των κυττάρων.

Η προτιμώμενη πηγή λήψης είναι το στρώμα του μυελού των οστών, από το οποίο είναι δυνατό να απομονωθεί ένας ετερογενής πληθυσμός ινοβλαστών και να αυξηθεί με πολλαπλασιασμό κατόπιν καλλιέργειας *in vitro*<sup>109,110</sup>. Τα κύτταρα αυτά ονομάζονται ινοβλάστες του στρώματος του μυελού των οστών (*bone-marrow stromal fibroblasts*, BMSFs) και μπορούν να οδηγηθούν προς διαφοροποίηση σε οστικά κύτταρα, όταν βρεθούν σε κατάλληλες συνθήκες καλλιέργειας<sup>111</sup>. Τα BMSFs, λανθασμένα, αναφέρονται συχνά σαν αρχέγονα πολυδύναμα μεσεγχυματικά κύτταρα. Τα πρώτα στερούνται τη δυνατότητα αυτοανανέωσης, ιδιότητα χαρακτηριστική των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων. Μελέτες μετά από κλωνοποίηση κατέδειξαν την παρουσία ενός υποπληθυσμού BMSFs με τουλάχιστον τριπλό δυναμικό διαφοροποι-

ησης σε χόνδρινο, λιπώδη και οστίτη ιστό στον άνθρωπο<sup>112</sup>.

Η κύρια κλινική εφαρμογή των οστεογενετικών υλικών αφορά την αποκατάσταση μεγάλων οστικών ελλειμμάτων. Πειραματικές μελέτες τοποθέτησης HA/TCP διφασικού υλικού εμπλουτισμένου με BMSFs για την πλήρωση σημαντικού μεγέθους οστικών ελλειμμάτων (21mm) σε μηρούς σκύλων κατέδειξαν ότι η ικανότητα των οστεογενετικών εμφυτευμάτων για νεοσχηματισμό οστού ήταν πάντα μεγαλύτερη συγκριτικά με αυτή του υλικού χωρίς εμπλουτισμό με κύτταρα ή όταν δεν υπήρχε καμία παρεμβολή υλικού μεταξύ του οστικού ελλείμματος<sup>113</sup>.

Τα φυσικά κοράλλια, εμπλουτισμένα με BMSFs, είναι επίσης ένα υλικό που συνδυάζει καλές μηχανικές ιδιότητες με ταχύ ρυθμό απορρόφησης και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση μεγάλων οστικών ελλειμμάτων κυρίως κάτω από συνθήκες συμπιεστικής φόρτισης.

Η εφαρμογή του σε μοντέλο οστικού ελλείμματος σε πρόβατα<sup>114</sup> είχε σαν αποτέλεσμα περισσότερο σχηματισμό οστού συγκριτικά με τις περιπτώσεις εκείνες όπου το έλλειμμα αφέθηκε κενό ή τοποθετήθηκαν κοράλλια εμπλουτισμένα με νωπό μυελό των οστών. Το οστό υπέστη μορφογένεση, η οποία οδήγησε σε πλήρη ανακατασκευή του φλοιού και του μυελικού αυλού με ώριμο

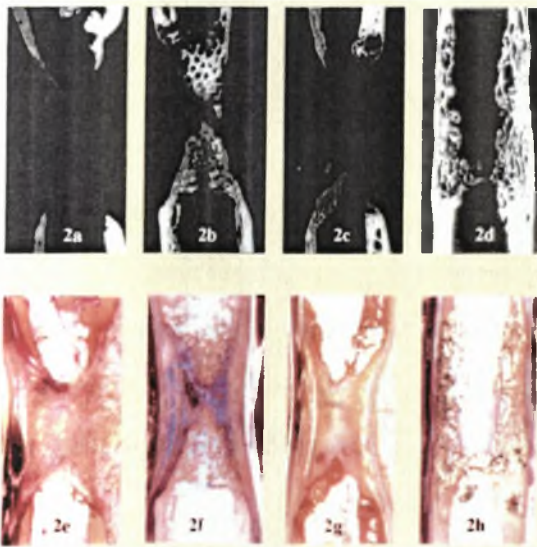


πεταλιώδες οστόν στις πιο καλές περιπτώσεις. Κλινικά, πώρωση επετεύχθη σε τρία από τα επτά σκέλη (εικ. 23).

Τα αποτελέσματα αυτά είναι ενθαρρυντικά, πλην όμως απαιτούνται περισσότερες μελέτες σε πειραματόζωα πριν από την εφαρμογή της μεθόδου στον άνθρωπο.

### Ηλεκτρικά-ηλεκτρομαγνητικά πεδία

Η χρήση του ηλεκτρισμού για την αντιμετώπιση διαφόρων προβλημάτων υγείας χρονολογείται λίγο μετά από την ανακάλυψή του.



Εικ. 23. Μικροακτινογραφίες και μικροφωτογραφίες μετά 16 εβδομάδες που δείχνουν τη δυνατότητα γεφύρωσης ενός σημαντικού βαθμού οστικού ελλείμματος μετά από την εφαρμογή οστεογενετικού υλικού σε πρόβατα. 2a, 2e: το έλλειμμα αφέθηκε κενό. 2b, 2f: τοποθετήθηκαν μόνο κοράλλια. 2c, 2g: κοράλλια και νωπός μυελός των οστών. 2d, 2h: κοράλλια εμπλουτισμένα με BMSFs.

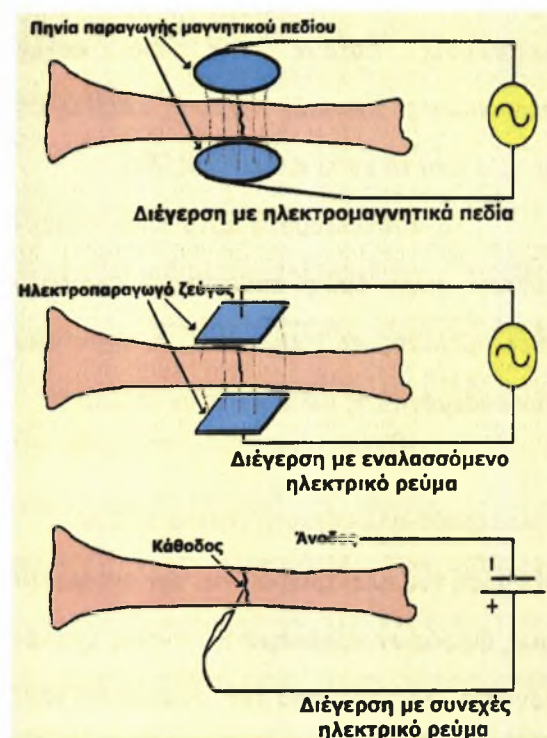
(Nat Biotechnol, 18, 959-963, 2000)

Στο άρθρο<sup>115</sup>, σχετικά με την ιστορία της χρήσης του ηλεκτρισμού για τη θεραπεία των καταγμάτων, ο Leonard Peltier επισημαίνει ότι η πιο πρώιμη δημοσιευμένη αναφορά έγινε το 1816 και αφορά μια περίπτωση ψευδάρθρωσης της κνήμης για τη θεραπεία της οποίας "...εκκενώσεις από ηλεκτρικό υγρό... διαπερνούσαν σε καθημερινή βάση το διάστημα μεταξύ των οστικών άκρων..."

Το οστόν, όπως και όλοι οι άλλοι ζωντανοί ιστοί, έχει ηλεκτρικές ιδιότητες. Η διάφυση των ζώντων οστών σε κατάσταση ηρεμίας έχει θετικό ηλεκτρικό φορτίο σε σχέση με τα άκρα του οστού. Εστίες καταγμάτων ή περιοχές με ενεργό σχηματισμό οστού είναι ηλεκτραρνητικές<sup>116</sup>. Υπάρχουν επίσης ηλεκτρικές ιδιότητες οι οποίες μεταβάλλονται μετά από την εφαρμογή μηχανικών δυνάμεων στο οστόν, όπως συμβαίνει υπό την επίδραση της φόρτισης του βάρους του σώματος. Οι ιδιότητες αυτές είναι δύο τύπων: τα πιεζοηλεκτρικά δυναμικά (piezoelectric potentials) που δημιουργούνται μετά από παραμόρφωση των ινών του κολλαγόνου της μεσοκυττάριας ουσίας<sup>117</sup> και τα δυναμικά ροής (streaming potentials) παραγόμενα κατά την κίνηση των υγρών που περιέχουν ήδη φορτισμένα μόρια της μεσοκυττάριας ουσίας. Τα τελευταία, φαίνεται να είναι μεγαλύτερου μεγέθους και διάρκειας από τα πιεζοηλεκτρικά<sup>118</sup>.

Αυτές οι μηχανικά μεταβαλλόμενες ηλεκτρικές ιδιότητες των οστών αναφέρθηκαν για πρώτη φορά στην ιατρική βιβλιογραφία τη δεκαετία του '50 από Ιάπωνες ερευνητές<sup>119</sup>, οι οποίοι επεσήμαναν τα πιεζοηλεκτρικά φαινόμενα μετά από φόρτιση σε αποξηραμένα οστά. Επίσης, κατέδειξαν ότι η πλευρά του οστού που δέχεται δυνάμεις συμπίεσης αναπτύσσει αρνητικά φορτία που ερεθίζουν τους οστεοβλάστες για οστικό σχηματισμό, ενώ η πλευρά που δέχεται δυνάμεις ελκυσμού αναπτύσσει θετικά φορτία που ερεθίζουν τους οστεοκλάστες για οστική απορρόφηση<sup>120</sup>. Αυτό αποτελεί και την αρχή λειτουργίας της οστικής ανακατασκευής (bone remodeling). Ακολούθησαν κι άλλες μελέτες σχετικά με τις βιοηλεκτρικές ιδιότητες των οστών<sup>121,122</sup> και γεννήθηκε η ιδέα ανάπτυξης και εφαρμογής συσκευών για τον ηλεκτρικό ερεθισμό των οστών σε περιπτώσεις που απαιτείται ενίσχυση της πώρωσης για την αποκατάσταση διαφόρων τύπων οστικής βλάβης.

Για κλινική εφαρμογή στην τρέχουσα ορθοπαιδική διατίθενται τρεις γενικοί τύποι συσκευών (εικ. 24): 1) *διέγερση με παλλόμενα ηλεκτρομαγνητικά πεδία* (μη αιματηρή μέθοδος) 2) *διέγερση με εναλλασσόμενο ηλεκτρικό ρεύμα* με τη χρήση ηλεκτροδίων επί του δέρματος (μη αιματηρή μέθοδος) και 3) *διέγερση με συνεχές ηλεκτρικό ρεύμα* με



Εικ. 24. Μέθοδοι οστικής διέγερσης με τη χρήση ηλεκτρικών-ηλεκτρομαγνητικών πεδίων.

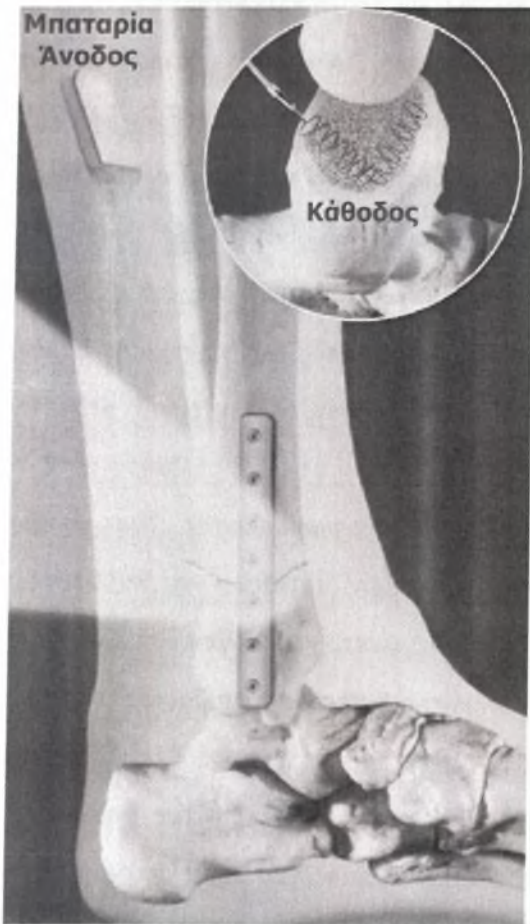
τη χρήση διαδερμικών ή εμφυτεύσιμων ηλεκτροδίων (αιματηρή μέθοδος). Τα ηλεκτρόδια του δευτέρου τύπου παριστούν ένα ηλεκτροπαραγωγό ζεύγος, ενώ στον τρίτο τύπο το ένα ηλεκτρόδιο είναι η άνοδος και το άλλο η κάθοδος.

Όλοι οι τύποι συσκευών λειτουργούν παράγοντας ηλεκτρικό ρεύμα με διαφορετικό τρόπο η καθεμιά. Οι διεγέρτες συνεχούς ηλεκτρικού ρεύματος απαιτούν την εμφύτευση της καθόδου στην εστία του κατάγματος και στη συνέχεια τη σύνδεση αυτής και της ανόδου με μια μπαταρία. Η άνοδος και η μπαταρία είναι δυνατό να εμφυτευτούν χειρουργικά κοντά στην εστία της βλάβης.



Εναλλακτικά, μπορεί να τοποθετηθούν διαδερμικά μόνο τα ηλεκτρόδια και η τροφοδοσία να γίνει από κάποια εξωτερική ηλεκτρική πηγή(εικ. 25).

Η εφαρμογή των άλλων δύο τύπων συσκευών είναι αναίμακτη. Το ηλεκτρομαγνητικό πεδίο παράγεται από πηνία και επάγει την παραγωγή και διέλευση ηλεκτρικού ρεύματος διαμέσου του ιστού, ο οποίος παρεμβάλλεται ανάμεσα στα πηνία. Το παραγό-



Εικ. 25. Ηλεκτροδιέγερση της πύρωσης με χρήση συνεχούς ηλεκτρικού ρεύματος. Η κάθοδος εμφυτεύεται στην εστία του κατάγματος, ενώ η μπαταρία και η άνοδος στους παρακείμενους ιστούς.

ενο πεδίο μπορεί να είναι στατικό (SEMF), παλλόμενο ημιτονοειδώς (PEMF) ή συνδυασμός των δύο παραπάνω (CMF). Τα ηλεκτρόδια των διεγερτών εναλλασσόμενου ηλεκτρικού ρεύματος είναι δύο φορτισμένες πλάκες που συγκροτούν ένα ηλεκτροπαραγωγό ζεύγος και τοποθετούνται πάνω στο δέρμα (εικ. 26, Πιν. 3).

Η διέγερση με συνεχές ηλεκτρικό ρεύμα (DC) ήταν η πρώτη που αναπτύχθηκε και ο μηχανισμός δράσης της είναι διαφορετικός από αυτόν των άλλων δύο μεθόδων. Η θεωρία που είναι η πλέον αποδεκτή υποστηρίζει ότι οι ηλεκτροχημικές μεταβολές στην κάθοδο οδηγούν τοπικά σε μείωση της μερικής τάσης του οξυγόνου, αύξηση του pH και εμφάνιση χημικών "φαραδικών προϊόντων" όπως  $H_2O_2$ , καταστάσεις που ευνοούν το σχηματισμό οστού. Φαίνεται ότι το ηλεκτρικό ρεύμα και τα χημικά προϊόντα από κοινού ενεργοποιούν την οστεοβλαστική και οστεοκλαστική δραστηριότητα, προάγοντας την οστική ανακατασκευή<sup>123</sup>. Μελέτες σε ζώα κατέγραψαν αυξημένη μιτωτική

**SEMF:** static electromagnetic field

**PEMF:** pulsed electromagnetic field

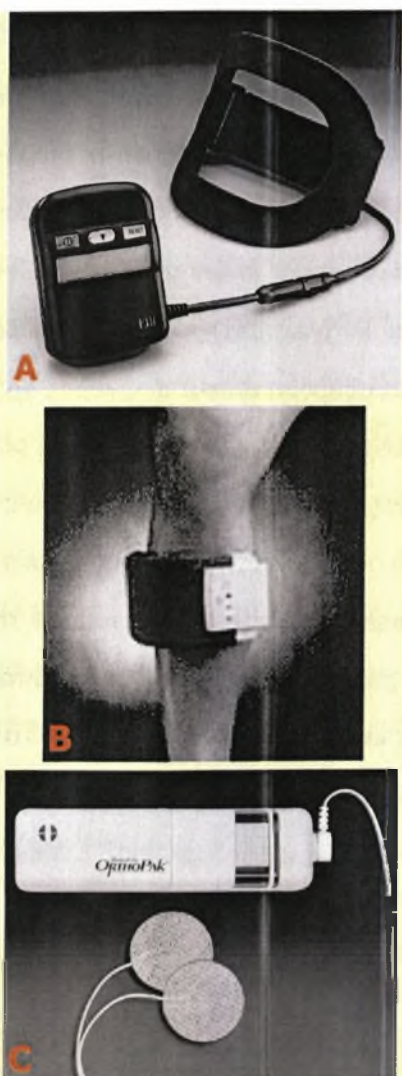
**CMF:** combined magnetic field

**DC:** direct current

**AC:** alternating current

Πιν. 3. Επεξήγηση των συντομογραφιών.

δραστηριότητα, τοπική συνάθροιση και διαφοροποίηση οστεοπρογονικών κυττάρων και επιτάχυνση του ρυθμού επιμετάλλωσης της μεσοκυττάριας ουσίας<sup>124</sup>. Τα φαινόμενα ήταν πιο έντονα γύρω από την κάθοδο και σε μια απόσταση 2-3mm. Η βέλτιστη ένταση του ηλεκτρικού ρεύματος που απαιτείται, δείχνει να είναι της τάξης των 20mAmp<sup>125</sup>.



Εικ. 26. Διάφοροι τύποι συσκευών ηλεκτροδιέγερσης που κυκλοφορούν στο εμπόριο. Α. EBI bone healing system (Biomet) Β. Physiostim Lite (Orthofix) Γ. Orthopak (Biomet)

Τα παλλόμενα ηλεκτρομαγνητικά πεδία επιδρούν στην κυτταρική μεμβράνη όπου φαίνεται ότι μπλοκάρουν τη δράση της παραθορμόνης και του παράγοντα ενεργοποίησης των οστεοκλαστών<sup>126</sup>. Επίσης προάγουν τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων με αποτέλεσμα την αύξηση της νεοαγγειογένεσης<sup>127</sup>. Έχει δείχθει ότι η ηλεκτρομαγνητική διέγερση πυροδοτεί την παραγωγή ή απελευθέρωση των αυξητικών παραγόντων που εμπλέκονται στη διεργασία της πώρωσης. Ρυθμίζουν τη μετεγγραφή του mRNA για την παραγωγή BMP-2, BMP-4<sup>128</sup> και διεγείρουν την παραγωγή άλλων παραγόντων όπως TGF- $\beta$ 1, IGF I και II<sup>129</sup>.

Πειράματα in vitro έχουν ρίξει φως σε μερικές πλευρές της βιοχημικής δράσης του εναλλασσόμενου ηλεκτρικού ρεύματος (AC). Ο Zhuang et. al<sup>130</sup> μελέτησε αυτά τα φαινόμενα χρησιμοποιώντας δύο πληθυσμούς οστικών κυττάρων σε καλλιέργεια. Παρουσία ηλεκτρικού πεδίου διανοίγονται οι δίαυλοι της κυτταρικής μεμβράνης, οι οποίοι εξαρτώνται από τη διαφορά δυναμικού εκτέρωθεν αυτής, επιτρέποντας την είσοδο του εξωκυτταρικού Ca εντός του κυττάρου. Ταυτόχρονα, διεγείρεται η παραγωγή PGE2 στην κυτταρική μεμβράνη μετά από ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A. Η αύξηση της συγκέντρωσης του Ca στο κυτταροπλασματικό δίκτυο προάγει την αύξηση της

ενεργοποιημένης καλμοδουλίνης των κυττάρων του σκελετού, η οποία με τη σειρά της θέτει σε λειτουργία τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την έκφραση του αυξητικού παράγοντα TGF-[beta]1.

Στην κλινική πράξη, η ευόδωση της πώρωσης με τη χρήση ηλεκτρικού ρεύματος έχει διερευνηθεί τα τελευταία 30 χρόνια. Η διέγερση με εμφύτευση ηλεκτροδίων DC αναφέρεται για πρώτη φορά στην Αυστραλία το 1974<sup>131</sup>. Οι μεγαλύτερη σειρά ασθενών αφορά μια πολυκεντρική μελέτη όπου ψευδαρθρώσεις στα μακρά οστά αντιμετωπίστηκαν με ποσοστό επιτυχίας 86%<sup>132</sup>. Σήμερα, η μέθοδος εφαρμογής DC για οστική διέγερση δεν χρησιμοποιείται ευρέως και οι συσκευές που κυκλοφορούν στο εμπόριο είναι περιορισμένες.

Περισσότερο διαδεδομένη είναι η χρήση PEMF και AC με αντίστοιχες κλινικές μελέτες που αξιολογούν την αποτελεσματικότητά τους. Ο Sharrard<sup>133</sup> διαπίστωσε στατιστικά σημαντική ευόδωση της πώρωσης σε κατάγματα κνήμης, στα οποία η πώρωση παρουσίαζε σημεία καθυστέρησης για διάστημα περισσότερο των 16 εβδομάδων, μετά από εφαρμογή PEMF. Οι Scott και King<sup>134</sup> πραγματοποίησαν μια προοπτική, τυχαιοποιημένη, τυφλή μελέτη εφαρμογής AC σε περιστατικά ψευδαρθρώσεων των μακρών οστών. Μια ομάδα 21 ασθενών με

ψευδαρθρώσεις που αφορούσαν το μηρό, την κνήμη και την ωλένη χωρίστηκαν σε δυο υποομάδες των 10 και 11 ατόμων με ενεργείς (ομάδα θεραπείας) και μη ενεργείς (ομάδα μάρτυρας) ηλεκτροδιεγέρτες αντίστοιχα. Το κάταγμα πωρώθηκε στους 6 από τους 10 ασθενείς με τους ενεργείς διεγέρτες. Πώρωση του κατάγματος δεν επήλθε σε κανέναν από τους 11 ασθενείς, όπου οι διεγέρτες ήταν ανενεργείς. Ο μέσος χρόνος θεραπείας ήταν 21 εβδομάδες. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι 6 από τους ασθενείς της ομάδας μάρτυρας υπεβλήθησαν αργότερα σε θεραπεία με ενεργείς συσκευές και οι δύο από αυτούς εμφάνισαν ταχεία πώρωση του κατάγματος.

Τόσο η έρευνα σε επίπεδο βασικών επιστημών, όσο και οι διάφορες κλινικές μελέτες έχουν πιστοποιήσει την ευεργετική επίδραση του ηλεκτρικού ρεύματος στη διεργασία της πώρωσης των καταγμάτων. Ερωτήματα που παραμένουν αδιευκρίνιστα και χρήζουν περαιτέρω διερεύνηση αφορούν τις ενδείξεις και αντενδείξεις της χρήσης του ηλεκτρικού ρεύματος, καθώς και το βαθμό υπεροχής του έναντι των άλλων μεθόδων ευόδωσης της πώρωσης. Η νεότερη από αυτές τις μεθόδους δε στηρίζεται στα ηλεκτρομαγνητικά φαινόμενα, αλλά σε μηχανική διέγερση μέσα από την ενέργεια που εκλύουν οι χαμηλής έντασης υπέρηχοι.

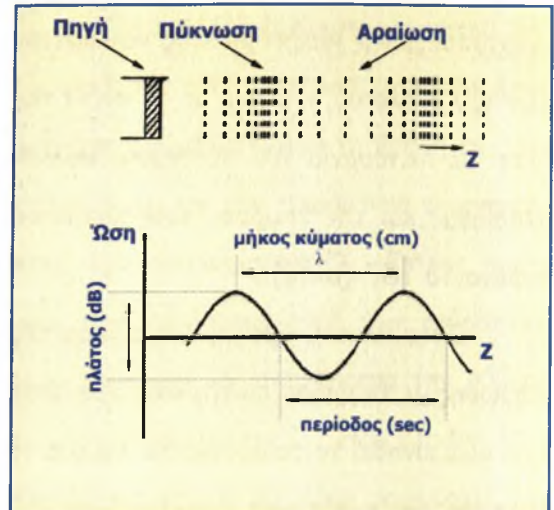


## Οι Φυσικές Αρχές των Υπερήχων και η εφαρμογή τους στην Ιατρική

### Ηχητικά κύματα και υπέρηχοι: βασικές έννοιες

Οποιοδήποτε φυσικό υλικό που υποβάλλεται σε παλμική κίνηση μπορεί να παράγει ήχο. Ήχος είναι το υποκειμενικό αίσθημα που δημιουργείται, όταν ένα ηχητικό κύμα διεγείρει το αισθητήριο όργανο της ακοής. Το ηχητικό κύμα (εικ. 27) είναι ένα ωστικό κύμα αποτελούμενο από πυκνώσεις και αραιώσεις και αντικατοπτρίζει την περιοδική παραμόρφωση του υλικού που είναι σε δόνηση. Η απεικόνιση του ηχητικού κύματος είναι μια ημιτονοειδής καμπύλη, στην οποία οι κορυφές και οι κοιλάδες παριστούν τα σημεία μέγιστης και ελάχιστης ώσης αντίστοιχα. Ήχος δεν είναι δυνατό να παραχθεί στο κενό. Τα μεγέθη που περιγράφουν ένα ηχητικό κύμα είναι: η περίοδος, η συχνότητα, η ταχύτητα, το πλάτος, η ισχύς, η ένταση και το μήκος κύματος.

Ένα απλό ηχητικό κύμα (μια πυκνώση και μια αραιώση) έχει δύο διαστάσεις, μία χρονική και μια χωρική. Η πρώτη καλείται **περίοδος** ( $T, \text{sec}$ ) και η δεύτερη **μήκος κύματος** ( $\lambda, \text{cm}$ ). Ο αριθμός των ηχητικών κυμάτων στη μονάδα του χρόνου ονομάζεται **συχνότητα** ( $f, \text{Hz}$ ). **Ταχύτητα** ( $c, \text{m/sec}$ )



Εικ. 27. Ένα απλό ηχητικό κύμα παράγεται από μια πηγή, η οποία είναι ένα υλικό που εκτελεί περιοδική παλμική κίνηση, αποτελείται από πυκνώσεις και αραιώσεις και απεικονίζεται με μια ημιτονοειδή καμπύλη.

του ήχου είναι η ταχύτητα διάδοσης του ηχητικού κύματος μέσα στα διάφορα υλικά (Πιν. 4). Η ταχύτητα αυτή είναι σταθερή και εξαρτάται από δύο ιδιότητες του υλικού, την πυκνότητα ( $\rho, \text{kg m}^{-3}$ ) και το συντελεστή ελαστικότητας (Young's modulus,  $E, \text{N m}^{-2}$ ), ο οποίος εκφράζει το μέτρο της ακαμψίας του υλικού. Η ταχύτητα,  $C$  συνδέεται με τα δύο αυτά μεγέθη με τον τύπο  $C = \sqrt{E/\rho}$ . Ο συντελεστής ελαστικότητας και η πυκνότητα για ένα δεδομένο βιολογικό ιστό εξαρτώνται από τη θερμοκρασία, επομένως και η ταχύτητα του ηχητικού κύματος εξαρτάται από τη θερμοκρασία του ιστού. Επιπρόσθετα, μια μικρή διακύμανση της ταχύτητας που παρατηρείται στα μαλακά μόρια (περίπου 6%)



Υλικό	Ταχύτητα (m/sec)
Αέρας	330
Αίμα	1570
Οστό	3500
Λίπος	1450
Μύες	1580
Νεφροί	1560
Απεσταγμένο νερό 20° C	1480
Ιστοί	1540

Πιν. 4. Ταχύτητα του ήχου σε διάφορα υλικά.

Υλικό	Ακουστική εμπέδηση ( $10^4 \text{ kg m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ )
Αέρας	$4 \times 10^{-4}$
Αίμα	1,61
Οστό	7,80
Λίπος	1,38
Μύες	1,70
Νεφροί	1,62
Απεσταγμένο νερό 20° C	1,48

Πιν. 5. Τιμές ακουστικής εμπέδησης διαφόρων υλικών.

αποδίδεται κυρίως στις μικρές διακυμάνσεις της ελαστικότητας αυτών. Η ταχύτητα του ήχου στα μαλακά μόρια του ανθρώπινου σώματος είναι περίπου 1540 m/sec. Ήχοι διαφορετικών συχνοτήτων διαδίδονται με την ίδια ταχύτητα στο αυτό μέσο, γεγονός που σημαίνει ότι το τελευταίο είναι αυτό που καθορίζει την ταχύτητα του ηχητικού κύματος.

Η ικανότητα ενός υλικού ως προς τη μετάδοση του ήχου ονομάζεται *ακουστική εμπέδηση (Z)*, είναι σταθερή για κάθε υλικό (Πιν. 5) και η σχέση της με την πυκνότητα του υλικού,  $\rho$  και την ταχύτητα του ήχου,  $C$  δίδεται από τον τύπο  $Z = \rho \times c$ . Γενικά, όταν αυξάνεται η πυκνότητα του υλικού, αυξάνει και η ταχύτητα μετάδοσης του ήχου διαμέσου αυτού. Για παράδειγμα, ο ήχος διαδίδεται ταχύτερα διαμέσου των οστών απ' ό,τι διαμέσου των υγρών. Επειδή  $c = f \times \lambda$ , η συχνότητα και το μήκος κύματος είναι αντίστροφως ανάλογα μεγέθη έτσι ώστε, όταν η συχνότητα αυξάνει το μήκος κύματος ελαττώνεται. Η σχέση αυτή είναι σημαντική στην

απεικόνιση με υπερήχους καθώς, για να παραχθεί λεπτομερώς ευδιάκριτη εικόνα, απαιτείται μικρότερο μήκος κύματος.

Πλάτος ενός ηχητικού κύματος είναι η κορυφαία τιμή ώσης αυτού και μετρείται σε dB, όπου  $1\text{dB} = 20 \times \log$  (μετρούμενη ώση του κύματος/ώση αναφοράς). Η τιμή της ώσης αναφοράς είναι  $2 \times 10^{-4} \text{ dyn} \times \text{cm}^{-2}$ . Συνεπώς, όταν η μετρούμενη τιμή της ώσης του ήχου είναι διπλάσια της ώσης αναφοράς, το πλάτος είναι 6dB ( $20 \times \log 2$ ), ενώ όταν είναι εκατονταπλάσια αυτό είναι 40dB. Η ισχύς ( $P$ , Watts) εκφράζει το ρυθμό παραγωγής έργου από τα ηχητικά κύματα στη μονάδα του χρόνου. Η ισχύς ελαττώνεται καθώς ο ήχος διαδίδεται διαμέσου κάποιου υλικού. Η ισχύς των διαφόρων συσκευών υπερήχων που χρησιμοποιούνται στην ιατρική είναι αυτή που καθορίζει τη βιολογική επίδραση των υπερήχων στους ιστούς. Ως ένταση ( $I$ , w/cm<sup>2</sup>) ορίζεται η ισχύς του ηχητικού κύματος που αντιστοιχεί στη μονάδα επιφάνειας του υλικού.

Το φάσμα των ακουστών συχνότητων για το ανθρώπινο αυτί κυμαίνεται μεταξύ 20 - 20000 Hz. Ηχητικά κύματα με συχνότητα άνω των 20 kHz ονομάζονται υπέρηχοι. Οι υπέρηχοι είναι μια μορφή μηχανικής ενέργειας που μεταδίδεται διαμέσου και μεταξύ παρακείμενων βιολογικών ιστών σαν ένα ωστικό κύμα. Εφαρμόζονται ευρέως στην ιατρική για θεραπευτικούς, χειρουργικούς και διαγνωστικούς σκοπούς<sup>135</sup>. Η συχνότητα των κλινικά χρησιμοποιούμενων υπερήχων είναι 1 - 10 MHz.

Οι υπέρηχοι που χρησιμοποιούνται θεραπευτικά έχουν ένταση 1 - 3 W/cm<sup>2</sup> και προκαλούν σημαντική αύξηση της θερμοκρασίας στους ζωντανούς ιστούς. Έτσι, η εφαρμογή τους κατά τη διάρκεια ενός προγράμματος φυσικοθεραπείας ελαττώνει την αρθρική δυσκαμψία, προκαλεί ύφεση του πόνου και του μυϊκού σπασμού και βελτιώνει την κινητικότητα των μυών<sup>136</sup>. Ακόμη μεγαλύτερη ένταση, 5 - 300 W/cm<sup>2</sup>, έχουν οι υπέρηχοι που χρησιμοποιούνται στη χειρουργική για νεφρική λιθοτριψία, αφαίρεση καταρράκτη των οφθαλμών και απομάκρυνση του τσιμέντου σε περιπτώσεις αναθεώρησης ολικών αρθροπλαστικών<sup>137</sup>.

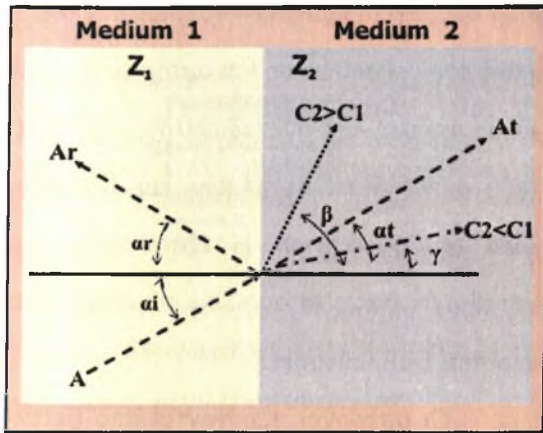
Στην άλλη άκρη του φάσματος, πολύ χαμηλότερες, 1 - 50 mW/cm<sup>2</sup>, είναι οι εντάσεις που απαιτούνται για να λειτουργήσουν οι διάφορες συσκευές αναίμακτης δια-

γνωστικής απεικόνισης. Τέτοιες συσκευές χρησιμοποιούνται για την απεικόνιση ζωτικών οργάνων, την παρακολούθηση της ανάπτυξης του εμβρύου, την εκτίμηση της περιφερικής αιματικής κυκλοφορίας, καθώς και για την αξιολόγηση της κλινικής πορείας ορισμένων μεταβολικών νοσημάτων των οστών, όπως η οστεοπόρωση<sup>138</sup>. Η ένταση των υπερήχων που εφαρμόζονται στην απεικόνιση δεν προκαλεί έκλυση θερμότητας ή βλάβη στους ιστούς<sup>139</sup>. Συνεπώς, οι χαμηλής έντασης υπέρηχοι (Low Intensity Ultrasound, LIUS) είναι μια μορφή μηχανικής ενέργειας ικανής να επηρεάσει την οστική μορφολογία και μάζα εκμεταλλευόμενη την ευαισθησία του οστού σε οποιοδήποτε μηχανικό ερέθισμα.

### Αλληλεπίδραση υπερήχων και ιστών

Το αποτέλεσμα της εφαρμογής των υπερήχων, ανεξάρτητα από το σκοπό για τον οποίο εφαρμόζονται, εξαρτάται από την αλληλεπίδρασή τους με τους ιστούς. Η αλληλεπίδραση αυτή (εικ. 28) περιγράφεται από τις παραμέτρους ανάκλαση, σκέδαση, διάθλαση και εξασθένηση.

Όταν οι υπέρηχοι προσπίπτουν στη διεπιφάνεια δύο υλικών με την ίδια ακουστική εμπέδηση (acoustic impedance), συνεχίζουν να διαδίδονται χωρίς καμία μεταβολή από το ένα υλικό στο άλλο. Στην περίπτωση



Εικ. 28. Αλληλεπίδραση των υπερήχων με τους ιστούς. Κύμα υπερήχων (A) προσπίπτει στη διεπιφάνεια δύο υλικών. Αν τα υλικά έχουν την ίδια ακουστική εμπέδηση, ( $Z_1 = Z_2$ ) το προσπίπτον κύμα συνεχίζει την πορεία του ανεπηρέαστο, (At). Αν  $Z_1 \neq Z_2$  ένα μέρος του προσπίπτοντος κύματος ανακλάται στο υλικό 1 (Ar) με γωνία ανάκλασης ( $\alpha_r$ ) ίση με τη γωνία πρόσπτωσης ( $\alpha_i$ ). Το υπόλοιπο μεταδίδεται στο υλικό 2 έχοντας υποστεί διάθλαση. Αν η ταχύτητα διάδοσης του ήχου στο δεύτερο υλικό είναι μεγαλύτερη απ' ότι στο πρώτο ( $C_2 > C_1$ ), τότε η γωνία διάθλασης ( $\beta$ ) είναι μεγαλύτερη από τη γωνία πρόσπτωσης ( $\alpha$ ). Αν  $C_2 < C_1$ , τότε  $\gamma < \alpha$ .

που τα υλικά αυτά έχουν διαφορετική ακουστική εμπέδηση, τότε ένα μέρος των υπερήχων ανακλάται και το υπόλοιπο μεταδίδεται από το πρώτο στο δεύτερο υλικό. Η ανάκλαση (reflection) είναι η αρχή, στην οποία στηρίζεται η απεικόνιση με υπερήχους. Η ποσότητα της ενέργειας των ανακλώμενων υπερήχων είναι ανάλογη με τη διαφορά της ακουστικής εμπέδησης μεταξύ των δύο

υλικών. Όσο μεγαλύτερη είναι αυτή, τόσο μεγαλύτερη και η ανάκλαση των υπερήχων. Η γωνία ανάκλασης είναι ίση με τη γωνία πρόσπτωσης. Μέγιστη ανάκλαση παρατηρείται, όταν το κύμα προσπίπτει κάθετα στη διεπιφάνεια των υλικών. Γίνεται αντιληπτό ότι η ισχύς του ανακλώμενου κύματος είναι το αποτέλεσμα συνδυασμού της γωνίας πρόσπτωσης και της διαφοράς ακουστικής εμπέδησης στη διεπιφάνεια. Άλλος ένας παράγοντας που επιδρά στην ένταση του ανακλώμενου κύματος είναι το μέγεθος και η μορφολογία του υλικού πάνω στο οποίο προσπίπτει το κύμα των υπερήχων. Υλικά μικρά σε μέγεθος (με πλάτος μικρότερο του μήκους κύματος των υπερήχων) ή με ανώμαλες επιφάνειες είναι ικανά να παράγουν ανακλώμενα κύματα που δεν εξαρτώνται από τη γωνία πρόσπτωσης, διαδίδονται προς όλες τις κατευθύνσεις και έχουν σημαντικά μικρότερη ένταση. Το φαινόμενο αυτό καλείται σκέδαση (scattering) και αποτελεί τη βάση της Doppler ηχοκαρδιογραφίας. Η μέθοδος βασίζεται στην καταγραφή των σκεδαζόμενων υπερήχων μετά από την πρόσπτωσή τους στα πολύ μικρά σε μέγεθος, κινούμενα ερυθρά αιμοσφαίρια.

Διάθλαση (refraction) είναι η εκτροπή του κύματος των υπερήχων από την αρχική του πορεία καθώς ένα μέρος αυτού μεταδίδεται στο δεύτερο υλικό μετά από την



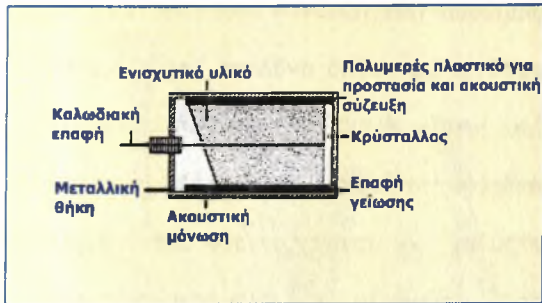
αρχική πρόσπτωση πάνω στη διεπιφάνεια δύο υλικών με διαφορετική ακουστική εμπέδηση. Διάθλαση δεν είναι δυνατό να συμβεί, όταν η γωνία πρόσπτωσης είναι  $90^\circ$  ή όταν η ταχύτητα διάδοσης του κύματος στα δύο υλικά είναι ίση (τα δύο υλικά έχουν την ίδια ακουστική εμπέδηση). Η γωνία διάθλασης είναι μεγαλύτερη από τη γωνία πρόσπτωσης, αν η ταχύτητα διάδοσης του κύματος είναι μεγαλύτερη στο δεύτερο υλικό συγκριτικά με το πρώτο (νόμος του Snell). Επειδή η ταχύτητα του ήχου στους ιστούς του ανθρώπινου σώματος δεν παρουσιάζει αξιόλογες μεταβολές, το ποσοστό διάθλασης που εμφανίζεται κατά τη διέλευση των υπερήχων από το σώμα είναι πολύ μικρό και έτσι θεωρούμε ότι η κατεύθυνση της δέσμης των υπερήχων παραμένει ευθεία.

Εξασθένηση (attenuation) είναι η μείωση της έντασης, της ισχύος και του πλάτους ενός κύματος υπερήχων κατά τη διέλευσή του διαμέσου των ιστών του σώματος. Η εξασθένηση αυτή εμφανίζεται κυρίως εξαιτίας: 1) απορρόφησης και μετατροπής σε θερμότητα της ενέργειας των υπερήχων και 2) ανάκλασης ή σκέδασης σε πολύ μικρές διεπιφάνειες ή ασυνέχειες στην ελαστικότητα των ιστών. Λόγω της εξασθένησης η ενέργεια του κύματος μειώνεται με σύγχρονη μείωση της διεισδυτικής του ικανότητας σε βαθύτερους ιστούς. Διαφορές

στην ακουστική εμπέδηση συμβάλλουν σημαντικά στην εξασθένηση και αυτός είναι και ο λόγος χρήσης της υδατοδιαλυτής γέλης μεταξύ μεταλλάκτη υπερήχων και δέρματος κατά την απεικόνιση. Η εξασθένηση των υπερήχων στους ιστούς του σώματος είναι περίπου  $1 \text{ dB/cm/MHz}$ .

Οι υπέρηχοι παράγονται από μεταλλάκτες (transducers, *εικ. 29*), οι οποίοι αποτελούν ένα από τα βασικά μέρη μιας συσκευής υπερήχων και εκτός από την παραγωγή, χρησιμεύουν και στην ανίχνευση των υπερηχητικών κυμάτων. Το κύριο συστατικό των μεταλλακτών είναι ένα πιεζοηλεκτρικό στοιχείο. Τα πιεζοηλεκτρικά στοιχεία, κρύσταλλοι ή κεραμικά, αλλάζουν σχήμα υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου. Η πρόσθια και οπίσθια επιφάνεια των πιεζοηλεκτρικών στοιχείων φέρει έναν ηλεκτρικό αγωγό. Μετά από εφαρμογή εναλλασσόμενου ηλεκτρικού ρεύματος συστέλλονται και διαστέλλονται παράγοντας πυκνώσεις και αραιώσεις, δηλαδή ηχητικά κύματα. Αντίστροφα, η μηχανική διέγερση του στοιχείου από ένα κύμα υπερήχων που προσπίπτει στην επιφάνειά του παράγει ηλεκτρικό σήμα. Η τάση του ηλεκτρικού ρεύματος που παράγεται είναι ανάλογη με την ενέργεια του προσπίπτοντος κύματος. Η όλη διάταξη (στοιχείο-ηλεκτρόδια) είναι τοποθετημένη εντός θήκης μετά από παρεμβολή





Εικ. 29. Διαγραμματική απεικόνιση της δομής ενός τυπικού μεταλλάκτη υπερήχων.

κατάλληλου ηχομονωτικού υλικού. Η θήκη είναι μεταλλική, εκτός από την πρόσθια επιφάνειά της που είναι σε άμεση επαφή με την πρόσθια επιφάνεια του πιεζοηλεκτρικού στοιχείου και είναι φτιαγμένη από πολυμερές πλαστικό. Αυτό εξυπηρετεί δύο σκοπούς, αφενός τη μηχανική προστασία του στοιχείου και αφετέρου την "ακουστική σύζευξη" μεταξύ στοιχείου και υλικού στο οποίο πρόκειται να γίνει η μετάδοση των υπερήχων. Η χαρακτηριστική συχνότητα των υπερήχων που παράγει ο μεταλλάκτης καθορίζεται από το πάχος του πιεζοηλεκτρικού στοιχείου.

Οι μεταλλάκτες μπορούν να εκπέμπουν *συνεχή ηχητικά κύματα* (continuous wave, CW) ή *σειρές ταυτόσημων παλμών* (pulsed wave, PW), καθένας από τους οποίους απαρτίζεται από λίγους κύκλους. Το φάσμα όλων των συχνοτήτων που εμπεριέχονται μέσα σε κάθε παλμό ονομάζεται *εύρος συχνοτήτων* (frequency bandwidth).

**Διάρκεια παλμού** (pulse duration, PD) είναι ο χρόνος που μεσολαβεί μεταξύ έναρξης και τέλους του κάθε παλμού και καθορίζεται από τον αριθμό των κύκλων και τη διάρκεια του καθενός κύκλου. **Περίοδος επανάληψης παλμού** (pulse repetition period, PRP) είναι ο χρόνος που μεσολαβεί από την έναρξη ενός παλμού μέχρι την έναρξη του επόμενου. **Συχνότητα επανάληψης παλμού** (pulse repetition frequency, PRF) είναι ο αριθμός των παλμών σε κάθε δευτερόλεπτο. Είναι προφανές ότι οι τιμές των PRP και PRF βρίσκουν αντίστροφα, ήτοι  $PRP \times PRF = 1$ .

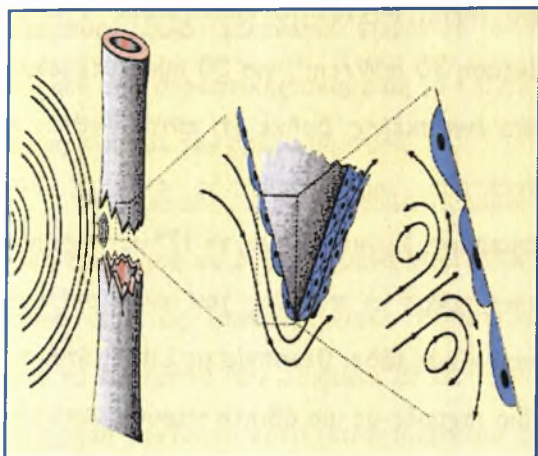
### Ευόδωση της Πώρωσης με Χαμηλής Έντασης Υπερήχους

Η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α (Food and Drug Administration, FDA) ενέκρινε τη χρήση των χαμηλής έντασης υπερήχων (LiUS) για την ευόδωση της πώρωσης σε πρόσφατα κατάγματα τον Οκτώβριο του 1994. Σχεδόν έξι χρόνια μετά, το Φεβρουάριο του 2000, η ίδια υπηρεσία ενέκρινε τη χρήση τους για τη θεραπεία των εγκατεστημένων ψευδαρθρώσεων. Κλινικές και πειραματικές μελέτες κατέδειξαν ότι οι υπέρηχοι έχουν θετική επίδραση σε καθένα από τα επιμέρους στάδια της πώρωσης, ενισχύοντας την αγγειογένεση, χονδρογένεση και οστεογένεση.

Η μορφολογία και η αρχιτεκτονική των οστών προσαρμόζονται στο μηχανικό περιβάλλον μέσα από τη διεργασία της οστικής ανακατασκευής, που συντελείται με βάση το μέγεθος και τη διεύθυνση της συνισταμένης των δυνάμεων που ασκούνται στα οστά<sup>140,141</sup>. Αυτή η σχέση συχνά αναφέρεται ως νόμος του Wolff και μια από τις πρωταρχικές ιδέες στην ορθοπαιδική είναι και η κατανόηση του κατάλληλου μηχανικού φορτίου για την ευόδωση της πύρωσης, η οποία δείχνει να επηρεάζεται περισσότερο από τη δυναμική παρά από τη στατική φόρτιση. Έτσι, εκτός από το μέγεθος και τη διεύθυνση της δύναμης φόρτισης υπεισέρχεται και ο παράγοντας συχνότητα<sup>142</sup>. Άλλες μελέτες επικεντρώνονται στη διέγερση της νεοαγγειογένεσης και της μικροκυκλοφορίας στην περιοχή του κατάγματος συνεπεία μηχανικής φόρτισης<sup>143</sup>. Οι υπέρηχοι είναι μια μορφή μηχανικής ενέργειας και ως εκ τούτου μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τα οστά εκμεταλλευόμενοι την ευαισθησία και την ανταπόκριση αυτών σε κάθε μορφής μηχανικό ερέθισμα.

Η δυσκολία στον καθορισμό του τρόπου αλληλεπίδρασης των LiUS με τα οστά και τα πέριξ μαλακά μόρια έγκειται στη σύνθετη ανταπόκριση των ζωντανών ιστών σε τέτοιου τύπου υψηλόσυχνα ωστικά ηχητικά κύματα. Κατά τη διέλευση των υπερήχων

διαμέσου των ιστών η ενέργειά τους απορροφάται με ρυθμό ανάλογο της πυκνότητας του ιστού. Αυτή η διαφορική απορρόφηση πιθανόν παίζει σημαντικό ρόλο στην επίκνωση των υπερήχων στο διακαταγματικό κενό, καθώς το οστό έχει σαφώς μεγαλύτερη πυκνότητα από το λίπος, τους μύες ή το αιμάτωμα (εικ. 30). Εξάλλου, οι ριζικές μεταβολές που επισυμβαίνουν στην πυκνότητα του πύρου, καθώς η πύρωση εξελίσσεται, είναι δυνατό να δημιουργήσουν μια βαθμίδωση ως προς τη μηχανική παραμόρφωση, η οποία προάγει το σχηματισμό οστού<sup>144</sup>. Η απορρόφηση του σήματος των LiUS οδηγεί στη μετατροπή ενέργειας σε θερμότητα<sup>145</sup>. Παρότι η διαφορά στην τοπική αύξηση της θερμοκρασίας είναι πολύ μικρή, μικρότερη από 1° C, μερικά ένζυμα όπως οι κολλαγενάσες είναι εξαιρετικά ευαίσθητα σε πολύ μικρές διακυμάνσεις της θερμοκρασίας<sup>146</sup>. Οι LiUS πιθανόν ευθύνονται για την αποκατάσταση των ενεργών μεταβολικών θερμοκρασιών σε περιοχές όπως τα περιφερικά τμήματα των άκρων ή σε περιοχές με κακή αιματική κυκλοφορία. Το φαινόμενο αυτής της πολύ μικρής διακύμανσης της θερμοκρασίας, αν και ανεπαίσθητο, έχει ουσιαστικό βιολογικό αντίκτυπο<sup>147</sup>. Επιπλέον, στη διεπιφάνεια οστού και πύρου, όπου υφίσταται διαφορά πυκνότητας, αρκετή από την ενέργεια του προσπίπτοντος κύματος των LiUS



Εικ. 30. Διάγραμμα που απεικονίζει τη φυσική επικέντρωση των υπερήχων στο διακαταγματικό κενό και τον τρόπο με τον οποίο τα κύτταρα της περιοχής διεγείρονται μηχανικά από τους υπερήχους. Εξαιτίας της μεγαλύτερης πυκνότητας του οστού συγκριτικά με το διακαταγματικό κενό και τα πέριξ μαλακά μόρια, το κύμα των υπερήχων (αριστερά) αυτοεπικεντρώνεται στη σχετικά χαμηλής πυκνότητας περιοχή του κατάγματος. Τα ωστικά κύματα διαπερνούν τις αιχμηρές επιφάνειες των κατεαγόντων οστικών άκρων (μέσον) διεγείροντας μηχανικά τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων της περιοχής. Η φυσική αυτή αλληλεπίδραση με τα κύτταρα οδηγεί το μεταβολισμό τους σε διάφορους οδούς (δεξιά) λόγω της μηχανικής παραμόρφωσης που αυτά υφίστανται, καθώς επίσης και εξαιτίας της " ακουστικά κατευθυνόμενης ροής" των παρακείμενων υγρών.

ανακλάται, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται ακόμη περισσότερο σύνθετες διακυμάνσεις των ακουστικών ώσεων μέσα στους ιστούς<sup>148</sup>.

Η διαφορά στην απορρόφηση της ενέργειας των υπερήχων δίνει γένεση στο φαινόμενο της "ακουστικής ροής" (acoustic streaming phenomenon). Αποτέλεσμα του φαινομένου αυτού είναι η μετακίνηση υγρών διαμέσου διαφόρων επιφανειών ιδιαίτερα σε περιοχές με περίσσεια ελεύθερου υγρού. Αυτή η "ακουστικά κατευθυνόμενη ροή" των υγρών<sup>149</sup> πιθανόν προάγει μηχανικά τη μετάδοση βιολογικών σημάτων, διεργασία που αναφέρεται ως μηχανοεπαγωγή (mechanotransduction)<sup>150</sup>. Η εφαρμογή των LiUS δημιουργεί ένα καθαρά δυναμικό περιβάλλον στην περιοχή του κατάγματος και η συνεπαγόμενη αύξηση της κυκλοφορίας των υγρών οδηγεί στη βελτίωση της παροχής θρεπτικών ουσιών και στην ταχύτερη απομάκρυνση των παραπροϊόντων του μεταβολισμού.

Το έτος 1952, ερευνητές από την Ιταλία κατέδειξαν, μετά από ελεγχόμενη διπλή μελέτη σε κατάγματα κερκίδας σε κουνέλια, ότι συνεχή κύματα υπερήχων είναι δυνατό να διεγείρουν το σχηματισμό του οστικού πύρου<sup>151</sup>. Τα ευρήματα αυτά οδήγησαν στην πρώτη κλινική εφαρμογή των υπερήχων για την ευόδωση της πώρωσης. Έτσι, το έτος 1953, οι ίδιοι ερευνητές βρήκαν σε μελέτη οκτώ ασθενών ότι η θεραπεία ήταν ασφαλής και είχε σαν αποτέλεσμα τον αυξημένο σχηματισμό περιοστικού πύρου<sup>152</sup>. Περισσότερο από 30 χρόνια αργότε-



ρα, οι Dyson και Brooks<sup>153</sup> κατέδειξαν επιτάχυνση της πώρωσης σε αμφοτερόπλευρα κατάγματα περόνης σε ποντίκια μετά από θεραπεία με παλμικό κύμα υπερήχων έντασης  $500 \text{ mW/cm}^2$ . Παράλληλα, διαπίστωσαν ότι η θεραπεία με LiUS ήταν περισσότερο αποτελεσματική κατά τη διάρκεια των πρώιμων σταδίων της πώρωσης.

Μεταφέροντας τα δεδομένα αυτά στην κλινική πράξη, οι Xavier και Duarte<sup>154</sup> ανακοίνωσαν, σε ιατρικό περιοδικό της Βραζιλίας, ότι 70% επί συνόλου 26 ψευδαρθρώσεων πωρώθηκαν μετά από σύντομη έκθεση ( $20 \text{ min/day}$ ) σε LiUS ( $30 \text{ mW/cm}^2$ ). Η παρέμβαση αυτή θεωρήθηκε αρχικά ότι είναι σε θέση να διεγείρει μηχανικά την πώρωση υποκαθιστώντας τη μερική ή πλήρη φόρτιση υπό την επήρεια του βάρους. Σε μια προσπάθεια καθορισμού των βέλτιστων παραμέτρων του σήματος των LiUS, ο Duarte<sup>155</sup>, μετά από μελέτη ιστολογικών παρασκευασμάτων και ακτινογραφιών, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το ίδιο σήμα που επιτυχώς χρησιμοποιήθηκε στις ψευδαρθρώσεις των ανθρώπων επιτάχυνε κατά 28% τη γεφύρωση οστεοτομιών σε κουνέλια. Ο Pilla et al.<sup>156</sup>, χρησιμοποίησε για τη μελέτη του μοντέλο αμφοτερόπλευρης οστεοτομίας στο μέσο της διάφυσης της περόνης σε κουνέλια. Μετά από εφαρμογή παλμικών υπερήχων (διάρκεια παλμού  $200 \mu\text{s}$ , συχνότητα

$1,5 \text{ MHz}$ , συχνότητα επανάληψης  $1 \text{ kHz}$ , ένταση  $30 \text{ mW/cm}^2$ ) για  $20 \text{ min}$  ημερησίως στο ένα σκέλος, βρήκε ότι επιταχύνθηκε η ανάκτηση της στρεπτικής αντοχής και ακαμψίας. Συγκεκριμένα, τη 17<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα οι περόνες του ενός σκέλους που είχαν λάβει θεραπεία με LiUS, ήταν το ίδιο ισχυρές με μια άθικτη περόνη. Από την άλλη πλευρά, χρειάστηκαν 28 ημέρες για να επιτευχθεί το ίδιο αποτέλεσμα στις περόνες του άλλου σκέλους που δεν έλαβαν θεραπεία. Η μελέτη κατέδειξε ότι τα οστά που έλαβαν LiUS ανέκτησαν τις εμβιομηχανικές τους ιδιότητες στο μισό χρόνο.

Με το ίδιο σκεπτικό ως προς τις βέλτιστες παραμέτρους του σήματος, ο Wang et al.<sup>157</sup> μελέτησε την πώρωση σε αμφοτερόπλευρα κλειστά κατάγματα της διάφυσης του μηριαίου σε ποντίκια. Οι παραπάνω συγγραφείς βρήκαν ότι παλμικό κύμα LiUS (διάρκεια παλμού  $200 \mu\text{s}$ , εύρος συχνοτήτων  $0,5\text{-}1,5 \text{ MHz}$ , συχνότητα επανάληψης  $1 \text{ kHz}$ , ένταση  $30 \text{ mW/cm}^2$ ) εφαρμοζόμενο για  $15 \text{ min}$  ημερησίως, αύξησε την αντοχή του οστού στην εστία του κατάγματος. Σε διάστημα τριών εβδομάδων, η μέγιστη τιμή της ροπής θραύσης των μηρών που είχαν υποβληθεί σε θεραπεία με LiUS ήταν κατά μέσον όρο 22% υψηλότερη από αυτή των ετερόπλευρων μηρών της ομάδας μάρτυρα. Η ομάδα θεραπείας που έλαβε



παλμούς LiUS 1,5 MHz εμφάνισε 67% αύξηση της στρεπτικής ακαμψίας ( $p < 0,02$ ) συγκριτικά με την ομάδα μάρτυρα.

Η ευαισθησία όσον αφορά τη βιολογική απάντηση σε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά σήματος υποστηρίχθηκε περαιτέρω από τα ευρήματα του Jingushi et al.<sup>158</sup>. Με τη χρήση μοντέλου κατάγματος μηριαίου σε ποντίκια κατέδειξε ότι η παλμική μορφή LiUS ενισχύει διάφορες πλευρές της διεργασίας της πώρωσης. Συγκεκριμένα, οδηγεί σε αύξηση της περιεκτικότητας και της πυκνότητας των μετάλλων του οστού. Επιπρόσθετα, αυξάνονται η μέγιστη τιμή της ροπής θραύσης και στρεπτικής ακαμψίας με γρηγορότερη εμφάνιση και ωρίμανση της ενδοχόνδρινης οστεοποίησης. Στην ίδια μελέτη οι συγγραφείς παρατήρησαν ότι μια διάρκεια παλμού της τάξης των 200μs ήταν περισσότερο αποτελεσματική στο να προάγει την πώρωση από ότι 100 ή 400μs, καθώς επίσης ότι η συχνότητα επανάληψης της τάξης του 1kHz ήταν περισσότερο οστεοεπαγωγική από αυτή των 2kHz.

Προκειμένου να καθορισθεί η επίδραση των υπερήχων στα επιμέρους στάδια της πώρωσης<sup>159</sup>, διερευνήθηκε η επιλογή του κατάλληλου χρόνου για θεραπεία με LiUS σε μοντέλο αμφοτερόπλευρου κλειστού κατάγματος σε ποντίκια. Στην εστία του κατάγματος εφαρμόστηκαν LiUS

σε τέσσερις διαφορετικές χρονικές περιόδους (ημέρα 1 μέχρι 8, 9 μέχρι 16, 17 μέχρι 24 και από ημέρα 1 μέχρι και 24) και όλα τα ζώα θυσιάστηκαν την 25<sup>η</sup> ημέρα. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η πώρωση επιταχύνθηκε σε όλες τις ομάδες των ζώων ανεξάρτητα από τη διάρκεια και τη χρονική περίοδο της θεραπείας. Τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν ακτινολογικά, ιστολογικά και μετά από εμβιομηχανική ανάλυση. Η μέγιστη ροπή θραύσης στην πλευρά που εκτέθηκε στους υπερήχους ήταν μεγαλύτερη από αυτή στην αντίθετη πλευρά. Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι, αν και η πώρωση ευοδώνεται, δεν υπάρχει κάποιο επιμέρους στάδιο αυτής που να είναι περισσότερο ευαίσθητο από κάποιο άλλο. Η ευεργετική επίδραση των LiUS δεν αφορά μόνο την πώρωση των καταγμάτων αλλά έχει καταδειχθεί και σε περιπτώσεις διατατικής οστεογένεσης<sup>160</sup> και σπονδυλοδεσίας<sup>161</sup> σε πειραματόζωα.

Πρόσφατα, ο Hantes et al.<sup>162</sup> μελέτησε για πρώτη φορά το αποτέλεσμα της διοστικής εφαρμογής των LiUS σε μοντέλο οστεοτομίας κνήμης σε πρόβατα. Για τη συγκράτηση της ανάταξης μετά την οστεοτομία χρησιμοποιήθηκε συσκευή εξωτερικής οστεοσύνθεσης, στις βελόνες της οποίας τοποθετήθηκαν μεταλλάκτες υπερήχων για την απευθείας μετάδοση αυτών στο οστό. Η μελέτη κατέδειξε ελάττωση κατά 23% του

χρόνου που απαιτήθηκε προκειμένου να επιβεβαιωθεί ακτινολογικά η πύρωση και σημαντική αύξηση του φορτίου θραύσης, της ακαμψίας καθώς και της οστικής πυκνότητας στα ζώα που έλαβαν θεραπεία με LiUS. Τα αποτελέσματα αξιολογήθηκαν συγκριτικά με τα ζώα της ομάδας μάρτυρα που δεν έλαβε θεραπεία με LiUS και αφορούν την 75<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα.

Εκτός από τα πρόσφατα κατάγματα, η επίδραση των χαμηλής έντασης υπερήχων έχει διερευνηθεί και σε περιπτώσεις διατακτικής οστεογένεσης με άλλωτε άλλα αποτελέσματα. Πειραματική μελέτη<sup>163</sup> σε κουνέλια κατέδειξε ότι η οστική πυκνότητα, η σκληρότητα και οι μηχανικές ιδιότητες του πύρου ήταν ανώτερες στην περίπτωση κατά την οποία η διάταση του πύρου συνοδεύτηκε από θεραπεία με υπερήχους. Μετά από μελέτη σε ποντίκια, ο Ebersson et al.<sup>164</sup> διαπίστωσε πρωιμότερη ακτινολογική πύρωση στα ζώα που έλαβαν θεραπεία με υπερήχους. Παράλληλα, το οστικό κλάσμα του όγκου και η αρχιτεκτονική του νεοσχηματισθέντος σπογγώδους οστού ήταν ανώτερα στα οστά που εκτέθηκαν στους υπερήχους συγκριτικά με τα οστά της ομάδας ελέγχου. Ο Tis et al.<sup>165</sup>, σε άλλη μελέτη βρήκε την περιοχή του σκληρού πύρου να υπερτερεί έναντι αυτής του ινώδους πύρου στα οστά της ομάδας που έλαβαν υπερήχους σε σχέ-

ση με τα οστά της ομάδας ελέγχου. Τέλος, ο Ugrow et al.<sup>166</sup> δεν παρατήρησε ουσιαστική διαφορά στην οστική πυκνότητα, στην επιφάνεια διατομής και στη μηχανική αντοχή του διαταθέντος πύρου μεταξύ των οστών που έλαβαν υπερήχους και των οστών της ομάδας ελέγχου σε κουνέλια.

Το ευρύ φάσμα των παραπάνω μελετών δείχνει ότι οι υπέρηχοι επηρεάζουν θετικά τη διεργασία της πύρωσης και ιδιαίτερα την ευαισθησία αυτής σε κάποια συγκεκριμένα χαρακτηριστικά του σήματος των υπερήχων. Παρόλα αυτά όμως δε ρίχνουν φως στις μεταβολές που συμβαίνουν σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο. Προκειμένου να διερευνηθούν οι βιολογικοί μηχανισμοί που ευθύνονται για την επίδραση που έχουν οι υπέρηχοι στην πύρωση, έχουν διεξαχθεί μελέτες τόσο *in vitro*, όσο και *in vivo* με χρήση διαφόρων μοντέλων κυτταρικών πληθυσμών.

Σε μια από τις πρώτες μελέτες αυτού του είδους, ο Charman et al.<sup>167</sup> αναφέρει ότι οι υπέρηχοι προκαλούν μεταβολές στο ρυθμό εισροής και εκροής ιόντων Κ στα θυμοκύτταρα ποντικών. Αργότερα, ο Ryaby et al.<sup>168,169,170</sup> ανακοίνωσε ότι οι LiUS αυξάνουν την ενσωμάτωση του Ca σε καλλιέργειες με διαφοροποιούμενα χονδροκύτταρα και οστικά κύτταρα, γεγονός που αντανακλά την επίδραση των LiUS στον κυτταρικό με-

ταβολισμό. Η αύξηση αυτή της δραστηριότητας του δεύτερου αγγελιοφόρου συνέβαινε παράλληλα με την τροποποίηση της δραστηριότητας της αδενυλ-κυκλάσης και της σύνθεσης του αυξητικού παράγοντα μετατροπής  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) στους οστεοβλάστες. Η επίδραση των LiUS πάνω στη δραστηριότητα του δεύτερου αγγελιοφόρου σε πρωτογενή χονδροκύτταρα αναφέρεται επίσης από τον Parvizzi et al.<sup>159</sup>, ο οποίος διαπίστωσε ότι η εφαρμογή υπερήχων με ένταση 50 mW/cm<sup>2</sup> οδηγεί σε αυξημένη απελευθέρωση ενδοκυττάρου Ca. Ο Kokubu et al.<sup>171</sup> έδειξε ότι οι LiUS (30 mW/cm<sup>2</sup>) αυξάνουν την παραγωγή της προσταγλανδίνης E<sub>2</sub> διαμέσου της επαγωγής του κυκλοοξυγενάση-2 mRNA σε οστεοβλάστες ποντικών και ο Ito et al.<sup>172</sup> μελέτησε τη δράση τους πάνω στην έκκριση των αυξητικών παραγόντων. Ο τελευταίος ερευνητής καλλιέργησε ταυτόχρονα στο ίδιο περιβάλλον ανθρώπινα οστεοβλαστικά και ενδοθηλιακά κύτταρα και βρήκε ότι οι LiUS αυξάνουν την έκκριση του αιμοπεταλιακού αυξητικού παράγοντα (PDGF).

Η απάντηση των οστεοβλαστών μετά από διέγερση με υπερήχους σε πιο πρόσφατες μελέτες κατέδειξε μεταβολές τόσο σε επίπεδο μεταβολικών οδών, όσο και σε επίπεδο έκκρισης διαφόρων ουσιών από τα κύτταρα αυτά. Ο Naruse et al.<sup>173</sup> εφήρμοσε χαμηλής έντασης παλμικούς υπερήχους σε

καλλιέργεια οστεοβλαστών ληφθέντων από το στρώμα του μυελού των οστών (ST2 bone-marrow stromal cells) και σε οστεοκύτταρα ποντικών. Οι ερευνητές διαπίστωσαν μια διαφορετική ανταπόκριση των αναβολικών οδών στους σχετικά νεαρούς οστεοβλάστες προς όφελος της παραγωγής οστεοκαλσίνης και ινσουλινοειδούς αυξητικού παράγοντα τύπου I (IGF-I). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μιας άλλης μελέτης<sup>174</sup>, η έκθεση καλλιέργειας οστεοβλαστών σε υπερήχους με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά (συχνότητα 1 MHz, συχνότητα επανάληψης 100 Hz, ένταση 600 mW/cm<sup>2</sup>) είναι δυνατό να ευοδώσει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό με σύγχρονη αύξηση της έκκρισης του αυξητικού παράγοντα μετατροπής  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) και μείωση της συγκέντρωσης της ιντερλευκίνης-6 και του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (IL-6, TNF $\alpha$ ) στο υλικό της καλλιέργειας. Οι ερευνητές της μελέτης αυτής εκφράζουν την άποψη ότι η διέγερση με υπερήχους πιθανόν να αποτελεί μια καλή προληπτική μέθοδο για την αποτροπή της απώλειας της οστικής μάζας που παρατηρείται στην οστεοπόρωση.

Οι μεταβολές της οστεογενετικής ικανότητας των κυττάρων του περιοστέου μετά από έκθεση σε χαμηλής έντασης παλμικούς υπερήχους μελετήθηκε από το Leung et al.<sup>175</sup> σε καλλιέργειες κυττάρων, τα

οποία είχαν ληφθεί από ανθρώπινο περίοστεο. Μετά το διαχωρισμό των κυττάρων σε ομάδα θεραπείας και ομάδα ελέγχου ανάλογα με την έκθεση ή όχι σε υπερήχους αντίστοιχα, αξιολογήθηκαν ο συνολικός αριθμός των ζώντων κυττάρων, ο πολλαπλασιασμός τους, η δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης, η έκκριση οστεοκαλσίνης, η έκφραση του ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα των αγγείων (vascular endothelial growth factor, VEGF) και ο σχηματισμός όζων ασβεστίου. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι οι υπέρηχοι όχι μόνο δεν επηρέασαν αρνητικά τη βιωσιμότητα των κυττάρων της ομάδας θεραπείας, αλλά επέδρασαν θετικά, προκαλώντας διέγερση του πολλαπλασιασμού τους κατά την πρώιμη φάση της καλλιέργειας. Η δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης και η έκκριση οστεοκαλσίνης και VEGF αυξήθηκαν κατά τρόπο δόσο-εξαρτώμενο στην έκθεση σε υπερήχους. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι ο σχηματισμός όζων ασβεστίου ήταν σημαντικά υψηλότερος στα κύτταρα της ομάδας θεραπείας. Σύμφωνα με τους ερευνητές της παραπάνω μελέτης, η διέγερση των κυττάρων του περιοστέου από τους υπερήχους έχει σαν αποτέλεσμα τη διαφοροποίησή τους προς σχηματισμό νέου οστού.

Στο πλαίσιο της συνεχούς αναπτυσσόμενης τα τελευταία χρόνια μηχανικής των

ιστών (tissue engineering), η επίδραση των χαμηλής έντασης παλμικών υπερήχων έχει διερευνηθεί και σε ιστούς πέραν του οστίτη ιστού, οι οποίοι μαζί με τον τελευταίο συνθέτουν το μυοσκελετικό σύστημα. Ο Cook et al.<sup>176</sup> χρησιμοποίησε μοντέλο οστεοχόνδρινου ελλείμματος σε πειραματόζωα και διαπίστωσε σημαντική βελτίωση των μορφολογικών και ιστολογικών χαρακτηριστικών του χόνδρου στην ομάδα που έλαβε θεραπεία με υπερήχους συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, στη οποία δεν έγινε θεραπεία. Κατόπιν διπλασιασμού του ημερήσιου χρόνου έκθεσης στους υπερήχους, διαπιστώθηκε ιστολογικά ακόμη μεγαλύτερη βελτίωση της ποιότητας του νεοσχηματισθέντος χόνδρου. Πρόσφατα, ο Miyamoto et al.<sup>177</sup> διερεύνησε τις μεταβολές στην παραγωγή μεσοκυττάριας ουσίας μετά από έκθεση σε υπερήχους κυττάρων, ληφθέντων από τον ινώδη δακτύλιο και τον πηκτοειδή πυρήνα βόειων μεσοσπονδύλιων δίσκων. Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη σύνθεση και έκκριση πρωτεογλυκανών και κολλαγόνου μεταξύ των κυττάρων που εκτέθηκαν στους υπερήχους και αυτών της ομάδας ελέγχου. Οι ερευνητές θεωρούν ότι οι υπέρηχοι είναι δυνατό να αποτελέσουν ένα χρήσιμο εργαλείο στη μηχανική των ιστών.

Εφόσον οι LiUS μεταβάλουν τη δράση των κυττάρων, είναι πιθανό αυτό να συμ-



βαίνει με απευθείας τροποποίηση της γονιδιακής τους έκφρασης. Ο Wu et al.<sup>178</sup> κατέδειξε ότι η έκθεση, μετά από καλλιέργεια, χονδροκυττάρων σε LiUS διεγείρει προς τα πάνω την έκφραση των υπεύθυνων γονιδίων για το σχηματισμό των συμπλόκων που απαρτίζουν τις πρωτεογλυκάνες. Η διεργασία σχηματισμού των πρωτεογλυκανών εμφανίζεται πρώιμα στην εστία του κατάγματος και είναι καθοριστικής σημασίας για τη δημιουργία του χόνδρινου ικριώματος, το οποίο ως γνωστόν αποτελεί το προστάδιο του οστικού πύρου. Με το ίδιο σκεπτικό, ο Parvizi et al.<sup>179</sup> έδειξε ότι οι LiUS διεγείρουν τη σύνθεση πρωτεογλυκανών σε χονδροκύτταρα ποντικών κατόπιν αύξησης της γονιδιακής έκφρασης. Αυτό ίσως εξηγεί το ρόλο των υπερήχων στην ενίσχυση της ενδοχόνδρινης οστεοποίησης που οδηγεί στην αύξηση της μηχανικής αντοχής του οστού.

Η ευεργετική επίδραση των υπερήχων στη διεργασία της πώρωσης δεν ασκείται μόνο σε μοριακό-γονιδιακό επίπεδο. Σε μελέτη από το Rawool et al.<sup>180</sup> φάνηκε ότι οι LiUS, μετά από εφαρμογή για χρονικό διάστημα δέκα ημερών, αύξησαν το βαθμό αγγειοβρίθειας στην περιοχή οστεοτομίας της ωλένης σε σκύλους. Οι παραπάνω ερευνητές υπέθεσαν ότι η αιματική ροή θα αυξηθεί κατά τη διάρκεια εφαρμογής των υπερήχων εντούτοις, αυτή παρατάθηκε και πέραν της

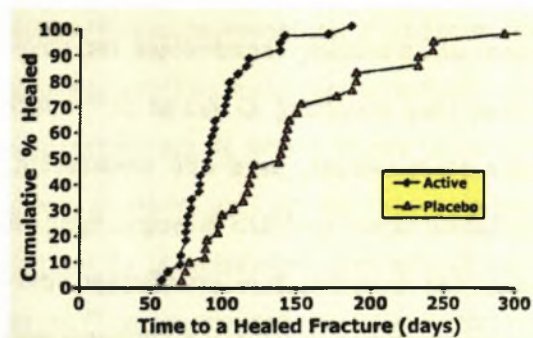
άρσης του διεγερτικού ερεθίσματος. Η αυξημένη αιματική ροή καταγράφηκε με χρήση συσκευών υψηλής ανάλυσης διαγνωστικών υπερήχων και συνοδεύτηκε από σχηματισμό ευμεγέθους πύρου. Αξιοσημείωτη υπήρξε και η βελτιωμένη κατανομή της αιματικής κυκλοφορίας στους γύρω ιστούς. Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι οι υπέρηχοι είναι δυνατό να επιφέρουν αύξηση στη ροή του αίματος τοπικά τόσο κατόπιν πρόκλησης διαστολής των τριχοειδών (δομική παρέμβαση), όσο και εξαιτίας διέγερσης της νεοαγγειογένεσης (κυτταρική παρέμβαση).

### Η ικανότητα των LiUS για ευόδωση της πώρωσης σε κλινικό επίπεδο

Το ευρύ φάσμα των πειραματικών μελετών σε επίπεδο βασικών επιστημών παρείχε ουσιώδεις ενδείξεις ότι οι LiUS επιταχύνουν και ενισχύουν τη διεργασία της πώρωσης. Παρόλα αυτά, κάθε νέα προτεινόμενη μέθοδος πρέπει να αξιολογηθεί και σε κλινικό επίπεδο προκειμένου να πιστοποιηθεί η θεραπευτική της αξία για τον άνθρωπο. Η πρώτη προσπάθεια αξιολόγησης της εφαρμογής των υπερήχων στη θεραπεία των καταγμάτων έγινε σε δύο τυχαιοποιημένες, προοπτικές, διπλά τυφλές, ελεγχόμενες κλινικές μελέτες.

Η πρώτη από αυτές πραγματοποιήθηκε από το Heckman et al.<sup>181</sup> και αφορά 67 κλειστά ή 1<sup>ου</sup> βαθμού ανοικτά κατάγματα κνήμης. Η θεραπευτική εφαρμογή LiUS έντασης 30 mW/cm<sup>2</sup> για 20 min ημερησίως οδήγησε σε σημαντική (24%) μείωση του χρόνου κλινικής πώρωσης (μέση τιμή του χρόνου πώρωσης 86 ± 5,8 ημέρες για την ομάδα θεραπείας συγκριτικά με 114 ± 10,4 ημέρες για την ομάδα μάρτυρα που δεν έλαβε LiUS). Καταγράφηκε επίσης μείωση κατά 38% (εικ. 31) του συνολικού χρόνου πώρωσης (μέση τιμή 96 ± 4,9 ημέρες για την ομάδα θεραπείας συγκριτικά με 154 ± 13,7 ημέρες για την ομάδα μάρτυρα). Ως συνολικός χρόνος πώρωσης ορίζεται ο χρόνος που απαιτείται για να επιτευχθεί τόσο κλινική όσο και ακτινολογική πώρωση του κατάγματος. Η συνεργασία των ασθενών όσον αφορά την καθημερινή εφαρμογή των LiUS ήταν εξαιρετική, ενώ επίσης δεν παρατηρήθηκαν επιπλοκές που να σχετίζονται με τη χρήση των υπερήχων.

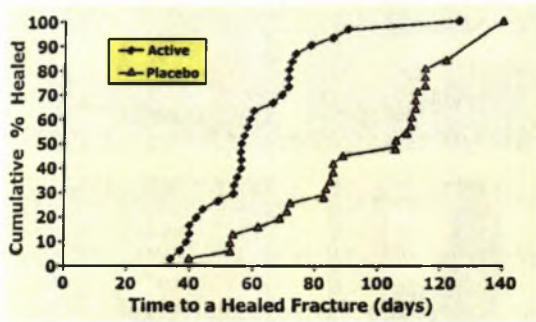
Η δεύτερη κλινική μελέτη αφορά 61 κατάγματα του κάτω πέρατος της κερκίδας με ραχιαία γωνίωση και έγινε από τον Kristiansen et al.<sup>182</sup>. Ο χρόνος που απαιτήθηκε για την πώρωση ήταν 38% βραχύτερος για τα κατάγματα της ομάδας που έλαβαν θεραπεία με LiUS για 20 min ημερησίως (μέση τιμή 61 ± 3 ημέρες για την ομάδα



Εικ. 31. Διάγραμμα που παριστά αθροιστικά το ποσοστό των καταγμάτων κνήμης της ομάδας θεραπείας και της ομάδας μάρτυρα που κατέληξαν σε κλινική και ακτινολογική πώρωση σε συνάρτηση με το χρόνο. (Heckman et al. *J Bone Joint Surg Am* 1994;76:26-34)

θεραπείας συγκριτικά με 98 ± 5 ημέρες για την ομάδα μάρτυρα). Επιπρόσθετα, η θεραπεία με υπερήχους συνοδεύτηκε από σημαντικά μικρότερο ποσοστό απώλειας της ανάταξης (20% ± 6% για την ομάδα θεραπείας έναντι 43% ± 8% για την ομάδα μάρτυρα). Το κέρδος της θεραπείας με LiUS φάνηκε καθαρά την 70<sup>η</sup> ημέρα μετά από το κάταγμα, όπου περίπου το 70% από τα τριάντα κατάγματα της ομάδας θεραπείας είχαν καταλήξει σε πώρωση σε σύγκριση με το 19% από τα τριάντα ένα κατάγματα της ομάδας μάρτυρα (εικ. 32).

Ο Cook et al.<sup>183</sup> αναλύοντας περαιτέρω τα δεδομένα των παραπάνω μελετών κατέγραψε ορισμένα σημαντικά ευρήματα. Στα κατάγματα της μελέτης του Heckman, που κατέληξαν σε κλινική και ακτινολογική



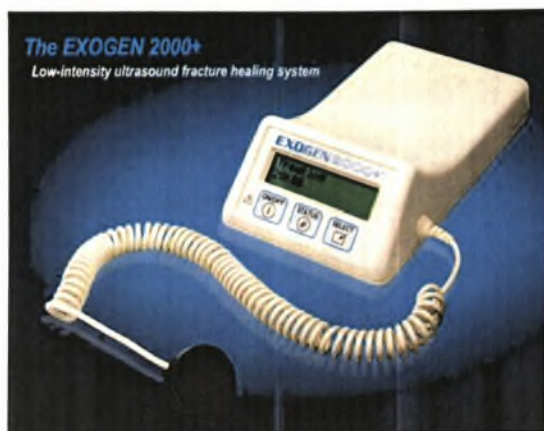
Εικ. 32. Διάγραμμα που παριστά αθροιστικά το ποσοστό των καταγμάτων κάτω πέρατος κερκίδας της ομάδας θεραπείας και της ομάδας μάρτυρα που κατέληξαν σε πώρωση σε συνάρτηση με το χρόνο. (Kristiansen et al. *J Bone Joint Surg Am* 1997;79:961-73)

πώρωση, βρήκε ότι 36% (δώδεκα) από τα τριάντα τέσσερα κατάγματα της ομάδας μάρτυρα παρουσίασαν καθυστερημένη πώρωση συγκριτικά με μόνο 6% (δύο) από τα τριάντα τρία της ομάδας θεραπείας. Το εύρημα αυτό υποδηλώνει ότι η έκθεση του κατάγματος στους υπερήχους όχι μόνο επιταχύνει την πώρωση, αλλά εξασφαλίζει και την ολοκλήρωσή της. Ένα άλλο σημαντικό εύρημα που προέκυψε από την ανάλυση του Cook και αφορά και τις δύο μελέτες είναι ότι η χρήση των LiUS, τόσο στα κατάγματα της κνήμης όσο και σε αυτά του κάτω πέρατος της κερκίδας, είχε σαν αποτέλεσμα να μειωθεί σημαντικά ο χρόνος πώρωσης στους ασθενείς που ήταν καπνιστές. Ο μέσος χρόνος πώρωσης για τα κατάγματα κνήμης στους καπνιστές μειώθηκε κατά 41% (από  $175 \pm$

27 ημέρες σε  $103 \pm 8,3$  ημέρες). Αναφορικά με τα κατάγματα του κάτω πέρατος της κερκίδας, ο μέσος χρόνος πώρωσης στους καπνιστές ήταν μειωμένος κατά 51% (από  $98 \pm 30$  ημέρες σε  $48 \pm 5,1$  ημέρες).

Η προαναφερθείσα έγκριση της Υπηρεσίας Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α (FDA) για τη χρήση των LiUS στην προαγωγή της πώρωσης των καταγμάτων βασίστηκε κυρίως στα αποτελέσματα των μελετών του Heckman και Kristiansen. Σε αυτές, η εφαρμογή των LiUS έγινε διαδερμικά με τη χρήση ειδικής συσκευής, η οποία αποτελείτο από την κυρίως μονάδα και το μεταλλάκτη των υπερήχων. Η συσκευή αυτή στη συνέχεια πέρασε από διάφορα στάδια εξέλιξης και, κατά το χρόνο συγγραφής της παρούσας διατριβής, είναι η μοναδική που διατίθεται για την ευόδωση της πώρωσης των καταγμάτων σε κλινικό επίπεδο με την εμπορική ονομασία Exogen (εικ. 33). Η συσκευή εφαρμόζεται για 20 min/day, παράγει υπερήχους έντασης  $30-161 \pm 30\%$  mW/cm<sup>2</sup> και ο μεταλλάκτης τοποθετείται πάνω στο δέρμα αντίστοιχα προς το ύψος του κατάγματος, αφού πρώτα διανοιχτεί ένα μικρό παράθυρο στο γύψινο επίδεσμο. Η όλη διαδικασία προβλέπει τη μόνιμη ενσωμάτωση του μεταλλάκτη μέσα στο γύψο ή την περιοδική τοποθέτηση και αφαίρεσή του επί του γύψου





Εικ. 33. Συσκευή παραγωγής χαμηλής έντασης υπερήχων για την ευόδωση της πώρωσης των καταγμάτων (Exogen™, Smith & Nephew, Memphis, TN).

με τη χρήση ειδικής ταινίας. Με την ίδια ταινία ο μεταλλάκτης εφαρμόζεται πάνω στο δέρμα και μετά την αφαίρεση του γύψου, ενώ παρέχεται και η δυνατότητα προσάρτησης του μεταλλάκτη πάνω στο πλαίσιο εξωτερικής οστεοσύνθεσης με τη χρήση ειδικού βραχίονα (εικ. 34).

Οι Frankel<sup>184</sup> και Lane et al.<sup>185</sup>, μετά από ανασκόπηση του μητρώου ασθενών της Exogen για το χρονικό διάστημα Ιούλιος 1997-Ιανουάριος 1998, βρήκαν ότι η συσκευή υπερήχων είχε χορηγηθεί με ιατρική γνωμάτευση σε ασθενείς που είχαν υποστεί κάταγμα και σε άλλα σημεία του σκελετού, εκτός από την κνήμη και το κάτω πέρασ της κερκίδας. Αξίζει να επισημανθεί το γεγονός ότι πολλοί από τους ασθενείς αυτούς είχαν στο ιστορικό τους επιβαρυντικούς παράγο-



Εικ. 34. Διαφορετικοί τρόποι τοποθέτησης του μεταλλάκτη υπερήχων της συσκευής Exogen.

ντες όπως μεγάλη ηλικία, διαβήτης, κάπνισμα, κυκλοφορική ανεπάρκεια και παχυσαρκία. Η πιο πρόσφατη ανασκόπηση του ίδιου αρχείου ασθενών που έγινε τον Ιούνιο του 2000 από το Rubin et al.<sup>159</sup> έδειξε ότι τα περισσότερα από τα 5050 πρόσφατα κατάγματα (0-90 ημέρες μετά από την κάκωση) πωρώθηκαν σε ποσοστό 94%. Στις περισσότερες από τις 1790 περιπτώσεις πρώιμης καθυστερημένης πώρωσης (91-150 ημέρες μετά από την κάκωση) πώρωση επετεύχθη σε ποσοστό 91%. Το αντίστοιχο ποσοστό για τις περιπτώσεις ασθενών με όψιμη καθυστερημένη πώρωση (151-255 ημέρες μετά από την κάκωση) ήταν 89%. Τέλος, σε σύνολο 256 ψευδαρθρώσεων που αφορούσαν διάφορα σημεία του σκελετού (περισσότερες από 255 ημέρες μετά από την κάκωση), πωρώθηκε το 83% σε ένα μέσο χρονικό διάστημα 172 ημερών.



Οι κυριότερες κλινικές μελέτες των τελευταίων πέντε ετών που αφορούν την επίδραση των LiUS στη διεργασία της πώρωσης εστιάζουν κυρίως το ενδιαφέρον τους σε ειδικού τύπου κατάγματα, όπως τα ανοικτά και τα κατάγματα του σκαφοειδούς, στις ψευδαρθρώσεις και στη διατακτική οστεογένεση. Είναι προφανές ότι η οποιαδήποτε ευεργετική δράση των υπερήχων απόκτά ιδιαίτερα πολύτιμη σημασία στις παραπάνω περιπτώσεις. Μετά από προοπτική, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη κλινική μελέτη σε ασθενείς με πρόσφατο κάταγμα σκαφοειδούς, ο Mayr et al.<sup>186</sup> έδειξε ότι τα κατάγματα της ομάδας θεραπείας πωρώθηκαν 30% ταχύτερα σε σχέση με αυτά της ομάδας μάρτυρα (μέσος χρόνος πώρωσης  $43,2 \pm 10,9$  ημέρες συγκριτικά με  $62 \pm 19,2$  ημέρες αντίστοιχα). Στο σύνολό τους οι ασθενείς ήταν τριάντα και τυχαιοποιήθηκαν σε δύο ισάριθμες ομάδες. Η αντιμετώπιση στην ομάδα θεραπείας περιελάμβανε επιπλέον και LiUS για 20 min ημερησίως. Τα αποτελέσματα αξιολογήθηκαν με τη χρήση αξονικής τομογραφίας.

Ο Leung et al.<sup>187</sup> εφάρμοσε LiUS με χρήση του τρέχοντος τύπου της συσκευής Exogen σε ανοικτά και κλειστά, κυρίως υψηλής ενέργειας κατάγματα της κνήμης. Η μελέτη αφορούσε τριάντα ασθενείς, οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν χειρουργικά με ενδο-

μυελική ήλωση ή εξωτερική οστεοσύνθεση, ανάλογα με τον τύπο του κατάγματος. Στη συνέχεια τυχαιοποιήθηκαν σε δύο ομάδες, από τις οποίες η ομάδα θεραπείας ( $n = 16$ ) έλαβε LiUS 20 min/day για ενενήντα ημέρες. Η παρακολούθηση της πώρωσης έγινε κλινικά, ακτινολογικά, βιοχημικά και με χρήση οστικής πυκνομετρίας. Με βάση τα κριτήρια αξιολόγησης των ερευνητών για καθεμιά από τις παραπάνω μεθόδους παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την ευόδωση της πώρωσης στην ομάδα των ασθενών που έλαβε υπερήχους.

Ο Nolte et al.<sup>188</sup> χρησιμοποίησε την ίδια συσκευή υπερήχων για τη θεραπευτική αντιμετώπιση 29 ψευδαρθρώσεων με εντόπιση την κνήμη, το μηρό, την κλείδα, το βραχίονα, την κερκίδα/ωλένη, το σκαφοειδές και τα μετατόρσια. Ο μέσος χρόνος που είχε μεσολαβήσει μεταξύ της κάκωσης και της εφαρμογής των LiUS ήταν 61 εβδομάδες. Η αρχική αντιμετώπιση ήταν συντηρητική σε 8 περιπτώσεις και χειρουργική στις υπόλοιπες 21. Οι LiUS εφαρμόστηκαν διαδερμικά κατ' οίκον για 20 min ημερησίως. Πώρωση επετεύχθη στο 86% του συνόλου των περιπτώσεων (25 από τις 29 ψευδαρθρώσεις) με επιμέρους ποσοστά 100% για τους μη καπνιστές, 82% για τους καπνιστές και 60% για τους πρώην καπνιστές.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν ορισμένες πρόσφατες κλινικές μελέτες, στις οποίες η διατακτική οστεογένεση αποτελούσε το βασικό θεραπευτικό άξονα και οι χαμηλής έντασης υπέρηχοι το επικουρικό μέσο για την ευόδωση της πώρωσης και της ενσωμάτωσης του νεοσχηματισθέντος οστού με το αρχικό. Σε κλινική μελέτη<sup>189</sup>, ασθενείς με αμφοτερόπλευρη οστεοαρθρίτιδα γόνατος εξαιτίας ραιβότητας, υποβλήθησαν σε οστεοτομία του κεντρικού τριτημορίου της κνήμης τύπου ανοικτής σφήνας, κατόπιν διάτασης του πύρου. Η θεραπεία με χαμηλής έντασης υπέρηχους στο ένα μόνο άκρο μετά τον τερματισμό της διάτασης, ευόδωσε σημαντικά την επιμετάλλωση του πύρου σε σύγκριση με το ετερόπλευρο άκρο, στο οποίο δεν εφαρμόστηκαν οι υπέρηχοι. Σε άλλη κλινική μελέτη<sup>190</sup> οκτώ ασθενών με μεγάλα τμηματικά ελλείμματα κνήμης τα οποία αντιμετωπίστηκαν με οστεομεταφορά, η θεραπεία με υπέρηχους είχε σαν αποτέλεσμα την επιτάχυνση της πώρωσης και την ευόδωση της ενσωμάτωσης του νεοσχηματισθέντος οστού. Η θεραπευτική αξία των υπέρηχων κατεδείχθη κλινικά και σε περιπτώσεις παιδιατρικών ασθενών που υπεβλήθησαν σε επιμήκυνση σκέλους για τη διόρθωση παραμορφώσεων. Πρόσφατα, οι Gebauer και Correll<sup>191</sup> αναφέρουν ότι η εφαρμογή για 20 min ημερησίως χαμηλής

έντασης υπέρηχων σε 17 περιπτώσεις παιδιών, που η επιμήκυνση του σκέλους κατέληξε σε καθυστερημένη πώρωση ή ψευδάρθρωση, επέφερε το σχηματισμό πύρου σε διάστημα 3-12 μήνες.

Στη βάση αυτού του ευρέως φάσματος πειραματικών και κλινικών μελετών, όπως προκύπτει και από την τελευταία ανασκόπηση από το Malizos et al.<sup>192</sup>, έχει μέχρι σήμερα καταδειχθεί η ευεργετική επίδραση των LiUS στη σύνθετη διεργασία της πώρωσης των καταγμάτων των οστών. Παράλληλα, έχουν προταθεί διάφοροι πιθανοί μηχανισμοί, υπεύθυνοι για την επίδραση αυτή που αφορούν όλα τα επιμέρους στάδια της πώρωσης. Τα οφέλη της μεθόδου που προκύπτουν δεν είναι μόνο για τον ασθενή, αλλά είναι και κοινωνικοοικονομικά<sup>193</sup>.

### **Παρακολούθηση της Πώρωσης με Χαμηλής Έντασης Υπέρηχους**

Η συνολική φροντίδα ενός κατάγματος περιλαμβάνει, εκτός από την αρχική συντηρητική ή χειρουργική αντιμετώπισή του, και τη μετέπειτα παρακολούθηση της πορείας της πώρωσης έως ότου αυτή ολοκληρωθεί. Καθοριστικής σημασίας για τον ορθοπαιδικό χειρουργό είναι η λήψη των απαραίτητων πληροφοριών που σχετίζονται με την ομαλή εξέλιξη της πώρωσης, έτσι ώστε να μπορεί

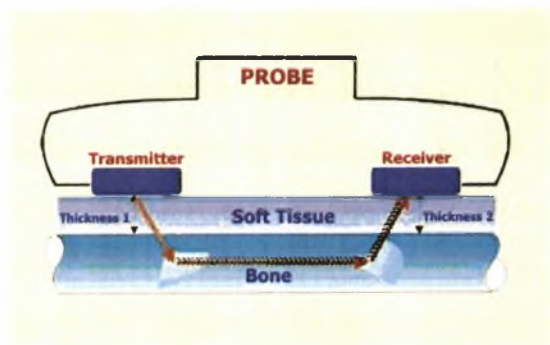
να παρέμβει έγκαιρα στην περίπτωση που αυτή εξελίσσεται πέραν των προβλεπόμενων χρονικών ορίων (καθυστερημένη πώρωση) ή σταματά να εξελίσσεται σε κάποιο από τα επιμέρους στάδιά της (ψευδάρθρωση). Η μέθοδος εκλογής για την παρακολούθηση της πώρωσης είναι ο συνδυασμός κλινικής εξέτασης του ασθενούς με ταυτόχρονη λήψη και αξιολόγηση ακτινογραφιών σε μια ή περισσότερες προβολές. Αυτό γίνεται σε τακτά χρονικά διαστήματα μετά από την αρχική αντιμετώπιση του κατάγματος και είναι εύλογο ότι τα συμπεράσματα που εξάγονται είναι ανάλογα με τις ικανότητες και την εμπειρία του χειρουργού.

Η μέχρι σήμερα έρευνα στο πεδίο της χρήσης υπερήχων για την εκτίμηση της προόδου της πώρωσης των καταγμάτων των οστών είναι σχετικά περιορισμένη. Οι υπάρχουσες τεχνικές στηρίζονται είτε στην απεικονιστική υπερηχοτομογραφία, είτε εκμεταλλεύονται τις ακουστικές ιδιότητες των οστών (ταχύτητα αγωγής υπερήχων, ακουστική εμπέδηση). Παρόλο που η πρώτη μέθοδος εφαρμόζεται ευρέως σε άλλες ειδικότητες, η απεικόνιση του μυοσκελετικού με υπερήχους απαιτεί ιδιαίτερη εμπειρία από τον εξεταστή για την ερμηνεία της εικόνας και αρκετές φορές η παρεμβολή των μαλακών μορίων καθιστά τα οστά δύσκολα προσπελάσιμα (μηριαίο). Επιπρόσθετα, δεν

παρέχει πληροφορίες που αφορούν τη μορφολογία και τη σύσταση του πώρου.

Με βάση τους υπερήχους, ο οστίτης ιστός μπορεί να χαρακτηριστεί "ακουστικά" από δύο παραμέτρους. Η πρώτη είναι η ταχύτητα διάδοσης των υπερήχων διαμέσου των οστών (speed of sound, SOS). Η δεύτερη παράμετρος σχετίζεται με την εξασθένηση των υπερήχων με ευρύ φάσμα συχνοτήτων κατά τη διέλευσή τους από τα οστά (broadband ultrasound attenuation, BUA) και ορίζεται ως η κλίση του γραμμικού τμήματος της καμπύλης που παριστά την εξασθένηση του κύματος των υπερήχων (dB) σε συνάρτηση με τη συχνότητα (MHz). Οι παράμετροι αυτές σχετίζονται στενά με τη δομή, την ακαμψία και την πυκνότητα του οστού και είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν στην ποσοτική υπερηχομετρία (quantitative ultrasound, QUS). Οι περισσότερες μετρήσεις στα οστά με υπερήχους χρησιμοποιούν την τεχνική μετάδοσης-λήψης στην οποία δύο μεταλλάκτες, που λειτουργούν ο ένας ως πομπός και ο άλλος ως δέκτης, τοποθετούνται σε διάταξη ο ένας απέναντι στον άλλον. Πρόσφατα, εφαρμόζεται η γραμμική ή αξονική μετάδοση όπου ο ήχος διαδίδεται κατά μήκος του οστού (εικ. 35).

Οι παράμετροι της QUS εμφανίζουν σημαντική θετική συσχέτιση με την οστική πυκνότητα (BMD). Μελέτες όπου γίνεται



Εικ. 35. Σχηματική απεικόνιση συστήματος για τη μέτρηση της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων κατά μήκος του οστού.

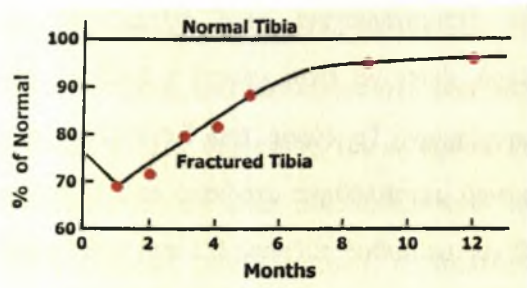
σύγκριση μετρήσεων QUS και τιμών BMD της ίδιας οστικής περιοχής κατέδειξαν βαθμό συσχέτισης  $0,7 - 0,9^{194}$ . Η μέθοδος που βασίζεται στη χρήση υπερήχων είναι σε θέση να διακρίνει το φυσιολογικό από το οστεοπορωτικό οστόν υποδηλώνοντας την κλινική της αξία στην αξιολόγηση του κινδύνου εμφάνισης καταγμάτων. Σήμερα, παράλληλα με τις συσκευές οστικής πυκνομετρίας που χρησιμοποιούν ιονίζουσα ακτινοβολία (QCT, DEXA), έχουν αναπτυχθεί από διάφορους κατασκευαστές και αντίστοιχες που κάνουν χρήση των υπερήχων.

Όπως προαναφέρθηκε, η ταχύτητα διάδοσης των υπερήχων στα οστά είναι σαφώς μεγαλύτερη σε σχέση με άλλους ιστούς και εξαρτάται άμεσα από την ακαμψία (ελαστικές ιδιότητες) του οστού. Συνεπώς, η ταχύτητα διαμέσου των κατεαγόντων οστικών τεμαχίων θα είναι μικρότερη συγκριτικά με αυτή στο άθικτο οστό, λόγω της μι-

κρότερης πυκνότητας και των διαφορετικών ελαστικών ιδιοτήτων του νεοσχηματιζόμενου πύρου. Γίνεται αντιληπτό ότι η μέτρηση της ταχύτητας των υπερήχων διαμέσου της εστίας του κατάγματος μπορεί να δώσει πληροφορίες σχετικά με την εξέλιξη της πώρωσης. Ο Anast et al.<sup>195</sup>, το έτος 1958, ήταν ο πρώτος που διερεύνει τη χρήση της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων για την εκτίμηση της προόδου της πώρωσης σε κατάγματα κνήμης. Με τη μέθοδο που εφαρμόσε κατάφερε να διακρίνει το κατεαγόν από το άθικτο οστό, χωρίς ωστόσο να μπορέσει να ταυτοποιήσει την πώρωση στα επιμέρους στάδιά της.

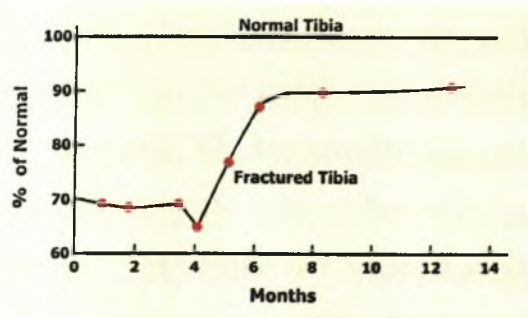
Περίπου δύο δεκαετίες αργότερα, το έτος 1975, ο Gerlanc et al.<sup>196</sup> πραγματοποίησε μια σειρά μετρήσεων της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων σε 21 κατάγματα κνήμης. Στη συγκεκριμένη μελέτη, αμέσως μετά το κάταγμα καταγράφηκε μείωση κατά 24% της ταχύτητας των υπερήχων συγκριτικά με την άθικτη κνήμη. Η μείωση της ταχύτητας συνεχίστηκε μέχρι την έβδομη ημέρα μετά από το κάταγμα. Ακολουθώντας, η ταχύτητα άρχισε να παρουσιάζει σταδιακή αύξηση παράλληλα με την εξέλιξη της πώρωσης. Κατά την περίοδο που οι ασθενείς μπορούσαν να περπατήσουν χωρίς πόνο (κλινική πώρωση), η τιμή της ταχύτητας του κατεαγόντος οστού έφτανε το 80% της τιμής





Εικ. 36. Μεταβολή της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων σε κάταγμα κνήμης σε συνάρτηση με το χρόνο και συγκριτικά με την άθικτη κνήμη. Η καμπύλη του διαγράμματος αντιστοιχεί σε πώρωση που εξελίσσεται φυσιολογικά. (Gerlanc et al. Clin Orthop 1975;111:175-180)

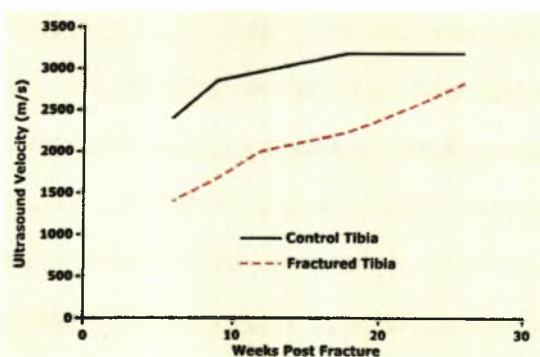
του υγιούς (εικ. 36). Στην περίπτωση καθυστερημένης πώρωσης η αρχική μείωση της ταχύτητας του κατεαγότες οστού παρατείνεται για περισσότερο χρόνο, ακολουθεί ταχύτερος ρυθμός αύξησης για να καταλήξει στα ίδια επίπεδα όπως και στη φυσιολογική πώρωση (εικ. 37). Παρόλο που το δείγμα των ασθενών ήταν μικρό, οι ερευνητές επε-



Εικ. 37. Μεταβολή της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων σε κάταγμα κνήμης σε συνάρτηση με το χρόνο και συγκριτικά με την άθικτη κνήμη. Η καμπύλη του διαγράμματος αντιστοιχεί σε καθυστερημένη πώρωση. (Gerlanc et al. Clin Orthop 1975;111:175-180)

σήμαναν την αξία της μεθόδου, καθώς και το γεγονός ότι μπορεί να δώσει περισσότερο αξιόπιστες πληροφορίες από ότι η κλινική εξέταση και η ακτινολογική εκτίμηση.

Σε μια μεταγενέστερη παρόμοια μελέτη από τον Cunningham et al.<sup>197</sup>, αν και η μεταβολή της ταχύτητας των υπερήχων ακολουθεί σε γενικές γραμμές την ίδια πορεία, εντούτοις καταγράφονται και μερικές αδυναμίες της μεθόδου. Η μελέτη αφορά 37 κατάγματα κνήμης, στα οποία η ταχύτητα διάδοσης των υπερήχων μετρήθηκε στα κατεαγότα οστά και έγινε σύγκριση με αυτή των άθικτων οστών (εικ. 38). Παρόλο που οι μετρήσεις της ταχύτητας στα κατεαγότα οστά ήταν σε συμφωνία με την εξέλιξη της πώρωσης, η ταχύτητα των υπερήχων διαμέσου των άθικτων οστών εμφάνισε συνεχή αύξηση στο χρονικό διάστημα μεταξύ 5<sup>ης</sup> και 25<sup>ης</sup> εβδομάδας μετά από το κάταγμα (από



Εικ. 38. Καμπύλη μετρήσεων (m/s) της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων σε κάταγμα κνήμης σε συνάρτηση με το χρόνο και σε σύγκριση με την άθικτη κνήμη. (Cunningham et al. J Med Eng Tech 1990;14:92-101)

2400 m/s σε 3100m/s αντίστοιχα). Επιπρόσθετα, η ταχύτητα των υπερήχων στα κατεαγότα οστά ήταν 2600 m/s την 25<sup>η</sup> εβδομάδα, τιμή μεγαλύτερη και από αυτή στα άθικτα οστά την 5<sup>η</sup> εβδομάδα. Οι συγγραφείς δεν μπόρεσαν να εξηγήσουν το φαινόμενο αυτό και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ένα κάταγμα μπορεί να θεωρηθεί πωρωθέν όταν η ταχύτητα διάδοσης των υπερήχων διαμέσου αυτού είναι τουλάχιστον ίση με το 80% της ταχύτητας στο άθικτο οστό.

Ο Njeh et al.<sup>198</sup> διερεύνησε τη μεταβολή της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων σε σχέση με το εύρος του διακαταγματικού κενού χρησιμοποιώντας το ήδη υπάρχον σύστημα υπερήχων για τη διάγνωση της οστεοπόρωσης, SoundScan 2000. Οι ερευνητές επέλεξαν το σύστημα αυτό γιατί θεώρησαν ότι είναι πιο ακριβές στις μετρήσεις του, συγκριτικά με τα συστήματα των προηγούμενων μελετών, λόγω του καινοτόμου σχεδιασμού του. Για την εκπόνηση της μελέτης αυτής σχεδιάστηκε ένα πλασματικό μοντέλο προσομοίωσης κατάγματος κνήμης από το υλικό Perspex (τύπος πλαστικού με ταχύτητα διάδοσης υπερήχων 2700 m/s, η οποία είναι παρόμοια με αυτή των οστών) με σχήμα και διαστάσεις όμοια με της κνήμης. Χρησιμοποιήθηκε επίσης φυσικό καουτσούκ (ταχύτητα υπερήχων 1600 m/s) για να προσομοιώσει τα πέριξ μαλακά μόρια και

το διακαταγματικό κενό πληρώθηκε με νερό, ώστε να είναι εφικτή η διάδοση των υπερήχων. Το εύρος του διακαταγματικού κενού μεταβλήθηκε σταδιακά από 0 mm σε 2 mm με ρυθμό αύξησης 0,1 mm κάθε φορά. Παρατηρήθηκε υψηλός συντελεστής συσχέτισης (correlation coefficient 0,996) μεταξύ της μεταβολής της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων και του εκάστοτε εύρους του διακαταγματικού κενού. Συνεπώς, θα ήταν δυνατό να προσδιοριστεί η απόσταση μεταξύ των κατεαγόντων οστικών τεμαχίων σε πραγματικό κάταγμα με βάση τη μέτρηση της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων. Οι συγγραφείς συμπέραναν ότι το σύστημα υπερήχων για τη διάγνωση της οστεοπόρωσης SoundScan 2000 θα μπορούσε θεωρητικά να χρησιμοποιηθεί για την ποσοτική παρακολούθηση της πώρωσης των καταγμάτων των οστών. Ο υπολογισμός του πλάτους του νεοσχηματιζόμενου πώρου θα αποτελούσε το δείκτη προόδου της πώρωσης. Συμπληρωματικά, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν και οι μετρήσεις της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων στην ετερόπλευρη υγιή κνήμη.

Η ίδια ερευνητική ομάδα, πραγματοποιώντας άλλη in vitro μελέτη<sup>199</sup>, διερεύνησε τη σχέση μεταξύ της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων και της εγκάρσιας διαμέτρου των οστών. Χρησιμοποιήθηκαν βόεια δοκί-

μια και πλασματικά μοντέλα οστών από το υλικό Perspex. Διαπιστώθηκε ότι στην περίπτωση που η διάμετρος του δοκιμίου σε εγκάρσια διατομή είναι μεγαλύτερη από το μήκος κύματος των υπερήχων, η ταχύτητα διάδοσης αυτών είναι ανεξάρτητη από τις διαστάσεις του δοκιμίου. Αντίστοιχα, όταν η διάμετρος είναι μικρότερη από το μήκος κύματος των υπερήχων, η ταχύτητα εξαρτάται καθοριστικά όχι μόνο από τις διαστάσεις, αλλά και από το σχήμα του δοκιμίου. Οι ερευνητές επισημαίνουν πως όταν οι υπέρηχοι χρησιμοποιούνται *in vivo*, θα πρέπει να λαμβάνονται πάντα υπόψιν αυτές οι παράμετροι και να επιλέγονται κύματα υπερήχων με τα κατάλληλα χαρακτηριστικά, ανάλογα με το πώς θα χρησιμοποιηθούν. Συγκεκριμένα, όταν η ταχύτητα χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση της πώρωσης, θα πρέπει να είναι ανεξάρτητη από τις διαστάσεις και το σχήμα του οστού, άρα επιλέγονται υπέρηχοι υψηλής συχνότητας (μικρό μήκος κύματος). Στην περίπτωση της διάγνωσης της οστεοπόρωσης απαιτείται μεγαλύτερη ευαισθησία ως προς τη μορφολογία του

οστού με αποτέλεσμα να χρησιμοποιούνται υπέρηχοι χαμηλότερης συχνότητας (μεγάλο μήκος κύματος).

Οι φυσικές ιδιότητες των υπερήχων σε συνδυασμό με την αναίμακτη εφαρμογή τους στην κλινική πράξη ευθύνονται για την καθιέρωσή τους τα τελευταία χρόνια ως βασικό, ισχυρό και πολύμορφο εργαλείο στα χέρια διαφόρων ιατρικών ειδικοτήτων. Αναμφισβήτητα, η αξιοποίηση αυτών των φυσικών ιδιοτήτων σε σημείο που οι υπέρηχοι να χρησιμοποιούνται σήμερα τόσο διαγνωστικά, όσο και θεραπευτικά είναι προϊόν πολυετούς και επίπονης έρευνας. Στον τομέα που αφορά την ευόδωση και την παρακολούθηση της πώρωσης των καταγμάτων των οστών, με βάση τα μέχρι τώρα ερευνητικά δεδομένα, οι υπέρηχοι είναι ένα πολλά υποσχόμενο μέσο με ισχυρές προοπτικές. Ωστόσο, παραμένουν αδιευκρίνιστοι οι ακριβείς μηχανισμοί αλληλεπίδρασής τους με τα οστά, γεγονός που αποτελεί κίνητρο περαιτέρω επιστημονικής διερεύνησης.

### Σκοπός της Μελέτης

Η πύρωση των καταγμάτων είναι μια σύνθετη βιολογική διεργασία, η οποία εμπλέκει πολυάριθμα κύτταρα, εκατοντάδες γονίδια και τον περίπλοκο σχηματισμό μιας ειδικού τύπου μεσοκυττάριας ουσίας με σκοπό την αποκατάσταση των μηχανικών ιδιοτήτων του οστού και της λειτουργικότητας του σκελετού. Παράλληλα, είναι μια χρονοβόρος διαδικασία απαιτώντας τις περισσότερες φορές αρκετούς μήνες για την ολοκλήρωσή της. Εξαιτίας αυτού, οι επιπτώσεις στον ψυχισμό του ασθενούς καθώς και στο ευρύτερο κοινωνικοοικονομικό περιβάλλον του είναι σημαντικές. Η παρακολούθηση της εξέλιξης της πύρωσης απαιτεί επανειλημμένες επισκέψεις στο ιατρείο του Ορθοπαιδικού Χειρουργού με ταυτόχρονη λήψη ακτινογραφιών, γεγονός που αποτελεί μια ακόμη επιβάρυνση για τον ασθενή.

Όπως εκτενώς αναφέρθηκε στο γενικό μέρος της παρούσας διατριβής, οι ερευνητικές προσπάθειες για την ανεύρεση νέων μεθόδων ευόδωσης και παρακολούθησης της πύρωσης είναι πολυάριθμες, διεξάγονται από επιστήμονες διαφόρων ειδικοτήτων σε ακαδημαϊκά ή βιομηχανικά εργαστήρια και εκτείνονται από το επίπεδο των

βασικών επιστημών μέχρι την καθημέρα κλινική πράξη. Στα πλαίσια αυτά, ο σκοπός της παρούσας προοπτικής ελεγχόμενης πειραματικής μελέτης είναι διπλός: 1) να διερευνήσει τη δυνατότητα της διοστικής εφαρμογής των χαμηλής έντασης υπερήχων για την ευόδωση της πύρωσης και 2) να εφεύρει ένα ολοκληρωμένο μοντέλο διάδοσης, λήψης και αξιολόγησης του σήματος των υπερήχων διαμέσου της εστίας του κατάνγματος, μέσα από το οποίο θα καταστεί δυνατή η παρακολούθηση της εξέλιξης της πύρωσης. Μέσα στα πλαίσια του δεύτερου σκέλους, η μελέτη φιλοδοξεί να καθιερώσει νέα πρότυπα μετάδοσης της ιατρικής πληροφορίας στον Ορθοπαιδικό Χειρουργό σε πραγματικό χρόνο.

Η επιλογή μας ως προς τη διοστική εφαρμογή των υπερήχων, με τη χρήση ειδικά κατασκευασμένων για το σκοπό αυτό μεταλλακτών, βασίστηκε στην υπόθεση ότι η έως τώρα διαδερμική εφαρμογή οδηγεί σε μεγαλύτερη εξασθένηση του σήματος λόγω παρεμβολής των μαλακών μορίων. Η μέθοδος αυτή είναι τόσο καινοτόμος όσο και μοναδική εξαιτίας του γεγονότος ότι μέχρι σήμερα δεν υπάρχει καμία βιβλιογραφική αναφορά σχετικά με απευθείας και επί του



οστού εφαρμογή χαμηλής έντασης υπερήχων. Επιπρόσθετα, έγινε προσπάθεια έτσι ώστε να δημιουργηθεί μια βάση δεδομένων με όλα τα ληφθέντα σήματα υπερήχων κατά τη διάρκεια εξέλιξης της πύρωσης προκειμένου, μετά από την επεξεργασία τους, να επιβεβαιωθεί ή όχι η ομαλή πορεία της. Αυτό επιτεύχθηκε διαμέσου μιας πλατφόρμας ασύρματης απομακρυσμένης μετάδοσης του σήματος για τις ανάγκες αυτής της παρακολούθησης.

### Σχεδιασμός της Μελέτης

Η μελέτη εντάσσεται στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος "Κοινωνία της Πληροφορίας" (IST-2000-26350), χρηματοδοτήθηκε μερικώς από την Ευρωπαϊκή Ένωση και ανατέθηκε στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας και Ιωαννίνων μετά από υποβληθείσα πρόταση που έγινε δεκτή. Το πρόγραμμα ήταν σε έλεγχο καθ' όλη τη διάρκειά του από τον αντίστοιχο φορέα χρηματοδότησης της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Ο σχεδιασμός και η εκπόνηση της μελέτης βασίστηκε σε δύο επιμέρους στάδια με σκοπό την όσο το δυνατό πληρέστερη κατανόηση των παραμέτρων που διέπουν τη διάδοση των υπερήχων διαμέσου των ιστών *in vitro* πριν από την εφαρμογή τους *in vivo*. Έτσι, κατά τη διάρκεια της πρώτης φάσης μελετήθηκε ο τρόπος διάδοσης των υπερή-

χων σε πτωματικό μοντέλο κατάγματος με προσομοίωση του πύρου κατόπιν παρεμβολής διαφόρων υλικών στο διακαταγματικό κενό. Επιπρόσθετα, έγινε προσπάθεια να δημιουργηθεί μια πρώτη βάση δεδομένων με διαφορετικά σήματα υπερήχων με σκοπό την ταυτοποίηση των επιμέρους σταδίων σχηματισμού του πύρου. Τα συμπεράσματα που εξήχθησαν ήταν καθοριστικά για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της δεύτερης φάσης, κατά την οποία οι υπέρηχοι εφαρμόστηκαν σε μοντέλο κατάγματος σε πειραματόζωα.

### Υλικό και Μέθοδος

Για την πληρέστερη κατανόηση της μελέτης από τον αναγνώστη η περιγραφή του υλικού και της μεθόδου θα γίνει με βάση τις δύο φάσεις της μελέτης που προαναφέρθηκαν.

#### **A' Φάση της Μελέτης**

Η πρώτη φάση διεκπεραιώθηκε εξ' ολοκλήρου στο εργαστήριο του Τμήματος Πληροφορικής, Τομέας Βιοϊατρικής Τεχνολογίας, Έρευνας και Ευφυών Πληροφορικών Συστημάτων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Χρησιμοποιήθηκαν 18 νωπές πτωματικές κνήμες σκελετικά ώριμων προβάτων για τη δημιουργία του μοντέλου κατάγματος. Τα οστά συντηρήθηκαν μέσα σε φυσι-

ολογικό ορό καθ' όλη τη διάρκεια του πειραματισμού. Αρχικά, εφαρμόστηκε στο οστό συσκευή εξωτερικής οστεοσύνθεσης τύπου Hoffmann II mono tube και στη συνέχεια έγινε οστεοτομία στο μέσο τριτημόριο της διάφυσης της κνήμης με τη χρήση ταλαντούμενου ορθοπαιδικού πριονιού. Η ανάταξη στην ανατομική θέση συγκρατήθηκε χάρη στην εξωτερική οστεοσύνθεση. Τα περιβάλλοντα μαλακά μόρια (μύες, τένοντες) διατηρήθηκαν στις μισές (9) κνήμες, ενώ στις υπόλοιπες αφαιρέθηκαν.

Δύο ευρυζωνικοί μεταλλάκτες υπερήχων ονομαστικής συχνότητας 500 kHz τοποθετήθηκαν επί του οστού εκατέρωθεν της οστεοτομίας. Ο ένας λειτουργούσε ως πομπός και ο άλλος ως δέκτης. Η συγκράτησή τους πάνω στην κυλινδρική οστική επιφάνεια επιτεύχθηκε με τη χρήση λεπτού, πλαστικού, αυτοασφαλιζόμενου ιμάντα και η μεταξύ τους απόσταση μεταβλήθηκε σταδιακά με βήμα 5 mm κάθε φορά (ελάχιστη απόσταση 15 mm, μέγιστη απόσταση 25 mm). Οι μεταλλάκτες υπερήχων σχεδιάστηκαν από το συνεργάτη μηχανικό του Τμήματος Πληροφορικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και κατασκευάστηκαν στις ΗΠΑ μετά από προσωπική επαφή του ιδίου με τον κατασκευαστή και ειδική παραγγελία (Valpey Fisher Corporation, Hopkinton, MA). Εμπεριέχονταν σε μεταλλική θήκη κυλινδρι-

κού σχήματος με ύψος 13,5 mm και διάμετρο 12 mm.

Οι καλωδιακές επαφές των μεταλλικών συνδέθηκαν με ειδική συσκευή που λειτουργούσε τόσο ως παλμογεννήτρια, όσο και ως δέκτης υπερήχων διαθέτοντας τις αντίστοιχες εισόδους και εξόδους σήματος. Τα τεχνικά χαρακτηριστικά της εν λόγω συσκευής είχαν ως εξής: αρνητικά οδεύουσα τάση παλμού (negative-going pulse voltage) -400 V, διάρκεια παλμού (pulse duration) 1,0 msec, απολαβή ενίσχυσης (amplification gain) 40 dB, ζωνοπερατό φίλτρο (band-pass filter) 0,2-2,0 MHz. Η όλη διάταξη ολοκληρώθηκε με τη σύνδεση παλμογράφου και ηλεκτρονικού υπολογιστή για την αποθήκευση και τελική επεξεργασία των σημάτων, η οποία γίνονταν σε δεύτερο χρόνο. Τα επιμέρους στοιχεία της πειραματικής διάταξης, καθώς και η τελική της μορφή παρατίθενται στις εικόνες 39 και 40.

Οι υπέρηχοι εφαρμόστηκαν σε κάθε κνήμη με παραγωγή και εκπομπή του κύματος από το μεταλλάκτη που λειτουργούσε ως πομπός ακολουθούμενη από λήψη και μετατροπή του κύματος σε ηλεκτρικό σήμα από το μεταλλάκτη που λειτουργούσε ως δέκτης. Για καθένα από τα οστά ελήφθησαν διαδοχικά σήματα πριν από την εκτέλεση της οστεοτομίας, αμέσως μετά και στη συνέχεια, κατόπιν παρεμβολής στο διακαταγμα-



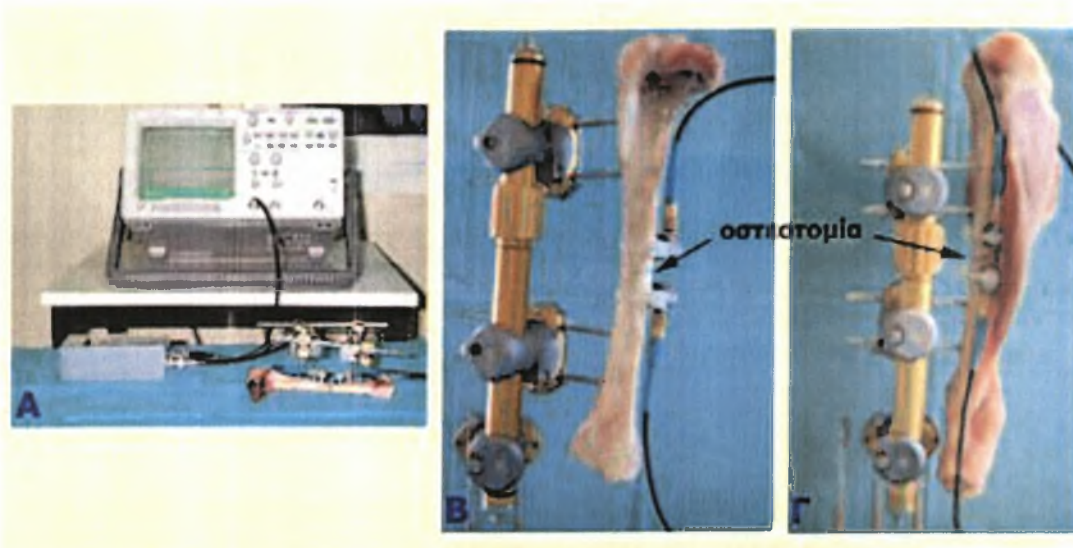
Εικ. 39. Στην εικόνα παρουσιάζονται τα επιμέρους στοιχεία της πειραματικής διάταξης για τη μελέτη της διάδοσης των υπερήχων στα οστά *in vitro*.

τικό κενό διαφόρων βιολογικών και μη υλικών προκειμένου να γίνει προσομοίωση των επιμέρους σταδίων της πώρωσης (αιμάτωμα, μαλακός χόνδρινος πώρος, σκληρός πώρος μετά την επιμετάλλωση, οστική ανακατασκευή). Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν μύες, χόνδρος, τένοντας, λίπος, μικρά τεμάχια φλοιώδους οστού, καθώς και συνθετικά ελαστικά ανόργανα υλικά όπως PVC και αφρός πολυουρεθάνης. Τα υλικά αυτά έχουν παρόμοιες μηχανικές ιδιότητες και εσωτερική μορφολογία με τον πώρο.

Κατεβλήθη ιδιαίτερη προσπάθεια για τη διερεύνηση και κατανόηση των μεταβολών του λαμβανόμενου σήματος υπερήχων

μετά από τροποποίηση συγκεκριμένων παραμέτρων της πειραματικής διάταξης κάτω από ένα ελεγχόμενο και ταυτόχρονα σταθερό μηχανικό περιβάλλον. Οι παράμετροι αυτές αφορούν τον τρόπο τοποθέτησης των μεταλλακτών επί του οστού, τη μεταξύ τους απόσταση, την επίδραση ή όχι της συσκευής εξωτερικής οστεοσύνθεσης στην ταχύτητα διάδοσης των υπερήχων στο οστό και το επίπεδο ενίσχυσης του λαμβανόμενου σήματος. Παράλληλα, δόθηκε έμφαση στην καταγραφή και συλλογή ενός μεγάλου αριθμού σημάτων για την ανάπτυξη μιας συστηματικής "βάσης δεδομένων υπερήχων" σχετικά με τα διάφορα υλικά προσομοίωσης που





Εικ. 40. (Α) Ολοκληρωμένη μορφή της πειραματικής διάταξης για τη μελέτη της διάδοσης των υπερήχων στα οστά *in vitro* (ο ηλεκτρονικός υπολογιστής δεν εικονίζεται). (Β),(Γ) Λεπτομέρεια, στην οποία φαίνονται η οστεοτομία και ο τρόπος τοποθέτησης των μεταλλικών εκατέρωθεν αυτής σε γυμνό οστόν και σε οστό που έχουν διατηρηθεί τα μαλακά μέρη αντίστοιχα.

χρησιμοποιήθηκαν. Αυτό είναι σημαντικό, όχι μόνο για την κατανόηση της "φύσης" του κύματος των υπερήχων καθώς αυτό διαδίδεται διαμέσου του οστού, αλλά και για το σχεδιασμό "έξυπνων τεχνικών" όπως ασαφής λογική και νευρωνικά δίκτυα με σκοπό την παρακολούθηση της εξέλιξης της πώρωσης σε πραγματικό χρόνο. Κατά την επεξεργασία των ληφθέντων σημάτων μελετήθηκαν διεξοδικά παράμετροι όπως η διακύμανση του σήματος μεταξύ των κνημών διαφορετικών ζώων, η παρουσία πολλαπλών κυμάτων ανάκλασης που συλλαμβάνονται από το μεταλλάκτη-δέκτη και η σχέση σήματος θορύβου (signal-to-noise ratio, SNR).

### Β' Φάση της Μελέτης

Η δεύτερη φάση της μελέτης πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στην Καρδίτσα, αφού ελήφθη κατόπιν αίτησης η σχετική άδεια από την αρμόδια υπηρεσία του Υπουργείου Γεωργίας.

Για την εκτέλεση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 40 σκελετικά ώριμα θηλυκά πρόβατα, ηλικίας 2-3,5 ετών και βάρους 42-50 kg, τα οποία μεταφέρθηκαν για σταβλισμό στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Κτηνιατρικής. Αυτές, εκτός από στάβλους με θέρμανση, εξαερισμό και αποχέτευση (εικ. 41), παρέχουν πλείστες δυνατότητες στις οποίες περιλαμβάνονται μικρο-





Εικ. 41. Ο σταβλισμός των ζώων έγινε στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

βιολογικό και βιοχημικό εργαστήριο, ειδικός χώρος λήψης ακτινογραφιών με σκοτεινό θάλαμο για την εμφάνισή τους, καθώς και αίθουσες χειρουργείων για μικρά και μεγάλα ζώα. Επιπρόσθετα, το επιστημονικό και βοηθητικό προσωπικό του Τμήματος (κτηνίατροι, ζωοκόμος) ήταν επιφορτισμένο με τον προεγχειρητικό έλεγχο και την καθημερινή μετεγχειρητική φροντίδα και παρακολούθηση των ζώων. Η τροφή των ζώων συνίστατο σε καλαμπόκι και τριφύλλι.

Όλα τα ζώα υπεβλήθησαν χειρουργικά σε οστεοτομία του μέσου τριτημορίου της διάφυσης της αριστερής κνήμης και σε όλα εφαρμόστηκε συσκευή εξωτερικής οστεοσύνθεσης για τη σταθεροποίηση και συγκράτηση της ανάταξης σε ανατομική θέση. Ακολούθως, χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ισάριθμες ομάδες, την ομάδα θεραπείας και

την ομάδα ελέγχου. Τα ζώα της ομάδας θεραπείας εκτέθηκαν σε χαμηλής έντασης υπερήχους για 20 min καθημερινά από τη δεύτερη μετεγχειρητική ημέρα έως τη θυσία των ζώων, η οποία έλαβε χώρα την εκατοστή ημέρα μετά από τη διενέργεια της οστεοτομίας και αφορούσε τα ζώα και των δύο ομάδων. Σε 30 ζώα (20 από την ομάδα θεραπείας και 10 από την ομάδα ελέγχου) έγινε παρακολούθηση της εξέλιξης της πώρωσης με τη χρήση ειδικού συστήματος που αναπτύχθηκε και θα περιγραφεί αναλυτικά στη συνέχεια. Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων, όσον αφορά την ευόδωση της πώρωσης από τους υπερήχους χαμηλής έντασης, έγινε με τη χρήση τακτικού μετεγχειρητικού ακτινολογικού ελέγχου, οστικής πυκνομετρίας και εμβιομηχανικών δοκιμασιών θραύσης των οστών. Τα δύο τελευταία έγιναν μετά από τη θυσία των ζώων και τη λήψη των οστικών δοκιμίων.

Για πρακτικούς λόγους, όπως επίσης και για τη διατήρηση της άρτιας εκτέλεσης και επαναληψιμότητας των πειραμάτων, η μελέτη διεκπεραιώθηκε χρονικά σε τέσσερις συνεδρίες. Η κάθε συνεδρία περιελάμβανε την εφαρμογή του ως άνω πρωτοκόλλου σε 10 ζώα, από τα οποία 5 εντάσσονταν στην ομάδα θεραπείας και 5 στην ομάδα ελέγχου.

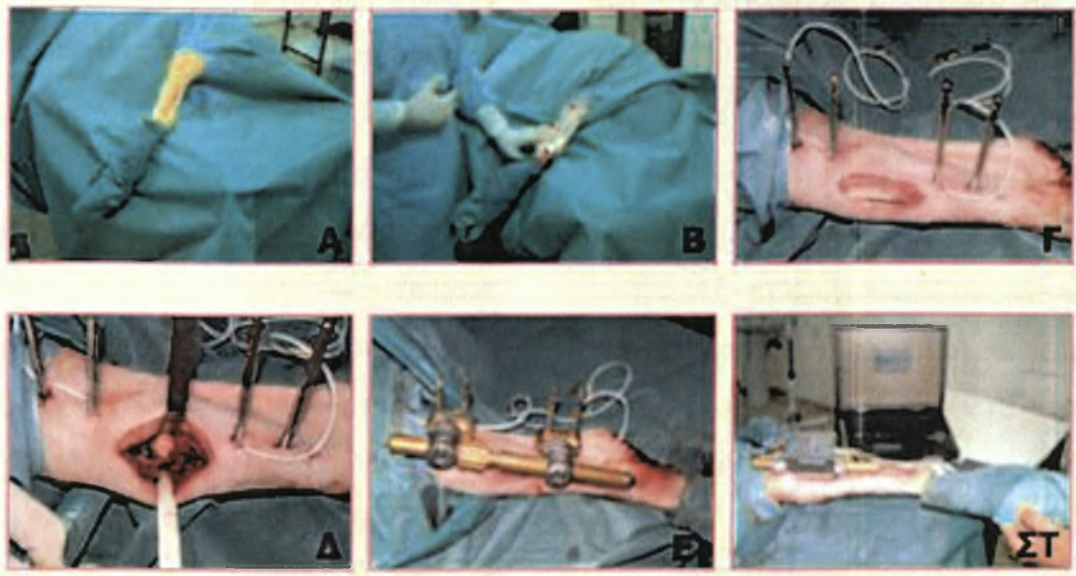
### Χειρουργική Τεχνική

Η επιλογή των ζώων έγινε με ιδιαίτερη προσοχή, έτσι ώστε αυτά να μην έχουν βήχα, παταμό, ρινικές εκκρίσεις, δερματικές βλάβες και προβλήματα βάδισης. Επιπρόσθετα, υπεβλήθησαν σε πλήρη προεγχειρητικό, κλινικό και εργαστηριακό έλεγχο από τους κτηνιάτρους του Τμήματος. Έγινε κλινική αξιολόγηση της καρδιάς, των πνευμόνων, των μαστών και του πεπτικού με ιδιαίτερη μέριμνα για τη διαπίστωση διαταραχών θρέψης. Ελέγχθηκαν επίσης η θερμοκρασία, ο αιματοκρίτης, η αιμοσφαιρίνη, ο αριθμός των ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων, τα αιμοπετάλια, οι ολικές πρωτεΐνες και τα ηπατικά ένζυμα. Ο εργαστηριακός έλεγχος ολοκληρώθηκε με ανάλυση των ούρων και κοπράνων. Στα ζώα που τελικά επιλέχθηκαν με βάση το παραπάνω πρωτόκολλο χορηγήθηκε προληπτικά αντιπαρασιτική αγωγή.

Το κάθε ζώο παρέμεινε χωρίς τροφή και νερό για 12 ώρες πριν από τη χειρουργική επέμβαση. Πριν από τη μεταφορά του ζώου στην αίθουσα του χειρουργείου γινόταν πλήρης αφαίρεση του τριχώματος του αριστερού κάτω άκρου (κούρεμα-ξύρισμα) και ακολουθούσε προνάρκωση με χορήγηση 1 mg Ξυλαζίνης (Xylazine) και 1 amp Ατροπίνης (Atropine) ενδομυϊκά. Δέκα λεπτά αργότερα, το ζώο μεταφερόταν στην αίθου-

σα του χειρουργείου και μετά από την τοποθέτηση ενδοφλέβιου καθετήρα ακολουθούσε η εισαγωγή στη γενική αναισθησία με τη χορήγηση 1,25% διαλύματος Νατριούχου Θειοπεντάλης (Pentothal) σε δόση 10 mg/kg σε συνδυασμό με Προποφόλη (Diprivan) σε δόση 3-4 mg/kg ή Κεταμίνη (Ketalar) 4mg/kg. Ιδιαίτερη προσοχή δινόταν στην αποφυγή αναπνευστικής καταστολής του ζώου με επακόλουθο την πρόκληση υποξείας. Η προνάρκωση, η εισαγωγή στη γενική αναισθησία, η διεγχειρητική παρακολούθηση και η ανάνηψη του ζώου διενεργούνταν από κτηνίατρο.

Το χειρουργικό πεδίο προετοιμάζεται με αποστειρωμένο ιματισμό και σχολαστικό καθαρισμό του άκρου με αντισηπτικό διάλυμα. Ακολουθεί η εισαγωγή στο οστό των τεσσάρων βελονών της εξωτερικής οστεοσύνθεσης (εικ. 42) μετά από ισάριθμες μικρές τομές (15 mm), ανά δύο, στο δέρμα του κεντρικού και περιφερικού τριτημορίου της κνήμης (30 mm περιφερικά του γόνατος και 40 mm κεντρικά της ποδοκνημικής αντίστοιχα). Οι βελόνες, με τύπο σπειράματος που τις καθιστά αυτοκόπτουσες, έχουν μήκος 120 mm και διάμετρο 5 mm. Η εισαγωγή τους γίνεται με χειροκίνητο τρυπάνι και με τη βοήθεια του ειδικού σωληνωτού οδηγού (sleeve) για την προστασία των μαλακών μορίων.



Εικ. 42. Διεγχειρητικές φωτογραφίες από την αρχή έως το τέλος της επέμβασης. (Α) Προετοιμασία του χειρουργικού πεδίου. (Β) Εισαγωγή των βελονών της εξωτερικής οστεοσύνθεσης (Γ) Χειρουργική προσπέλαση στο μέσο της κνήμης και τοποθέτηση των μεταλλακτών υπερήχων επί του οστού (διακρίνονται οι καλωδιακές επαφές των μεταλλακτών) (Δ) Οστεοτομία (το πλαίσιο της εξωτερικής οστεοσύνθεσης έχει αφαιρεθεί, ώστε να φαίνεται) (Ε) Συσσκευή εξωτερικής οστεοσύνθεσης τύπου Hoffmann II mono-tube (ΣΤ) Άμεση μετεγχειρητική καταγραφή του σήματος των υπερήχων με το σύστημα παρακολούθησης της πύρωσης και τη χρήση ηλεκτρονικού υπολογιστή.

Στο σημείο αυτό γίνεται ενδοφλέβια χορήγηση αντιβιοτικών (κεφαλοσπορίνη 3<sup>ης</sup> γενιάς σε συνδυασμό με κάποιο αντισταφυλοκοκκικό) για την αποφυγή μετεγχειρητικής λοίμωξης.

Στη συνέχεια, γίνεται τομή δέρματος 5 cm στη μεσότητα της κνήμης, διάνοιξη της περιτονίας, διύνηση των μυών και αποκάλυψη του οστού. Ακολουθεί η εμφύτευση των μεταλλακτών υπερήχων στην πρόσθια-έξω επιφάνεια της κνήμης επί του περιοστέου και σε απόσταση 25 mm μεταξύ τους. Οι μεταλλάκτες συγκρατήθηκαν στη θέση τους

μετά από περιβρογχισμό με βιοαπορροφήσιμο ράμμα (Vicryl No 0) χάρη στις οπές και στην ειδική εγκοπή που έφερε το περίβλημά τους για το σκοπό αυτό.

Μετά τη διευθέτηση των καλωδιακών επαφών των μεταλλακτών από μέσα προς τα έξω διά των οπών των βελονών, εφαρμόζεται συσκευή εξωτερικής οστεοσύνθεσης τύπου Hoffmann II mono-tube (Stryker, Mahwah, NJ). Το πλαίσιο της συσκευής είναι μονόπλευρο, ενός επιπέδου. Ακολούθως, γίνεται οστεοτομία στο μέσο της απόστασης μεταξύ των μεταλλακτών με



τη χρήση ταλαντούμενου ορθοπαιδικού πριονιού. Με κατάλληλη ρύθμιση του μήκους της ράβδου της εξωτερικής οστεοσύνθεσης αφέθηκε κενό 2 mm μεταξύ των οστικών τεμαχίων. Η επέμβαση ολοκληρώνεται με τη σύγκλειση του δέρματος και τη λήψη ακτινογραφιών σε δύο προβολές (προσθοπίσθια και πλάγια) πριν από την ανάνηψη του ζώου.

### Περιγραφή του συστήματος υπερήχων για την ευόδωση-παρακολούθηση της πώρωσης

Το σύστημα υπερήχων που αναπτύχθηκε και δοκιμάστηκε στην παρούσα πειραματική μελέτη επιτελεί δύο λειτουργίες: α) την προαγωγή της πώρωσης και β) την εκ του μακρόθεν παρακολούθηση της εξέλιξής της με αποστολή δεδομένων στο θεράποντα ορθοπαιδικό χειρουργό.

Το σύστημα αποτελείται από ένα ζεύγος εμφυτεύσιμων μεταλλακτών υπερήχων (ultrasound transducers), μια συσκευή που ο ασθενής δύναται να φέρει διαρκώς πάνω του (wearable device) και μια κεντρική μονάδα (centralized unit). Οι μεταλλάκτες εμφυτεύονται χειρουργικά ένθεν και ένθεν στην εστία του κατάγματος σε άμεση επαφή με την επιφάνεια του οστού και η λειτουργία τους βασίζεται στην αξονική μετάδοση (axial transmission mode). Η φορη-

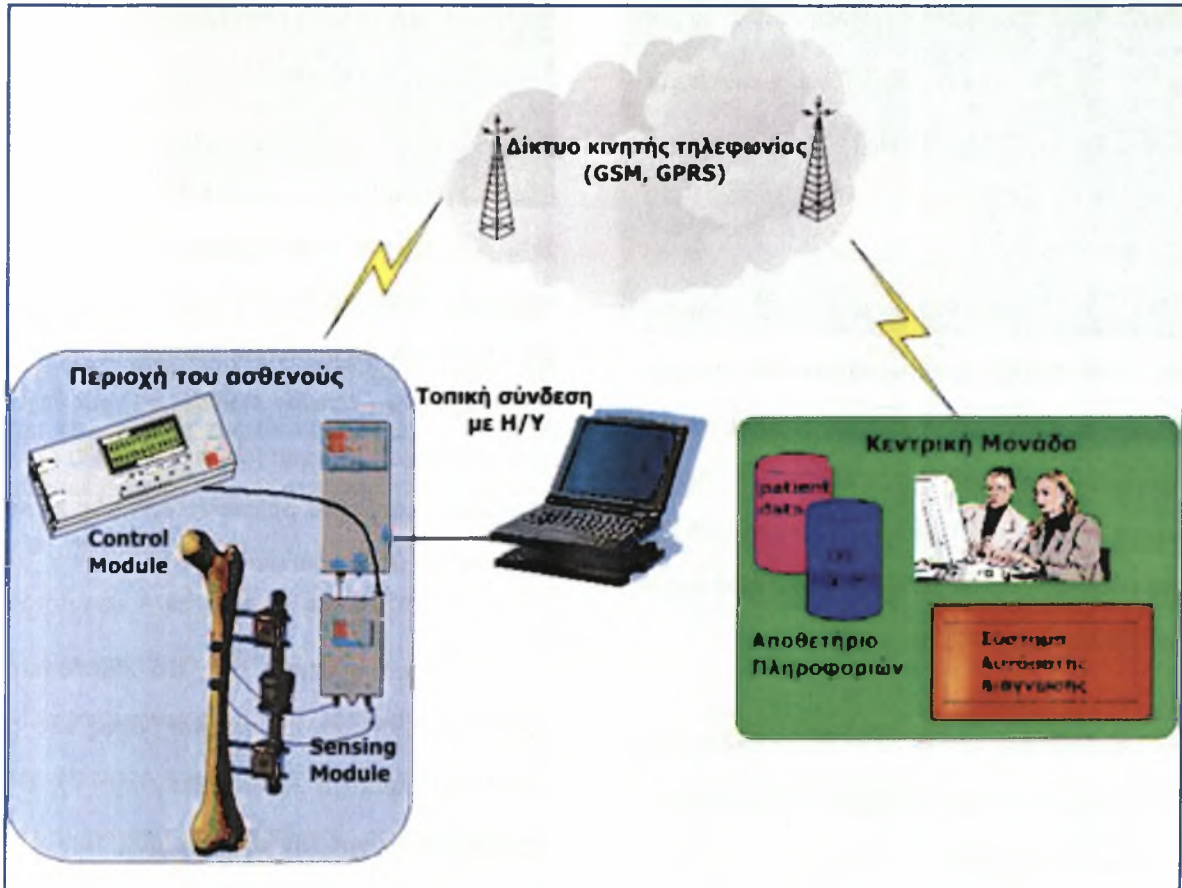
τή συσκευή, η οποία είναι ειδικής κατασκευής πρωτότυπο, επιτελεί τις συνεδρίες θεραπείας με LiUS, συλλέγει τα λαμβανόμενα σήματα υπερήχων και ακολούθως, μεταδίδει τα δεδομένα στην κεντρική μονάδα μέσω ασύρματης επικοινωνίας με αυτή. Η τελευταία βρίσκεται στο χώρο της κλινικής δραστηριότητας του χειρουργού παρέχοντάς του τις ιατρικές πληροφορίες για τη λήψη αποφάσεων. Η εικ. 43 παριστά διαγραμματικά την όλη αρχιτεκτονική του συστήματος.

#### Α. Εμφυτεύσιμοι μεταλλάκτες υπερήχων

Για τις ανάγκες της δεύτερης φάσης της πειραματικής μελέτης οι μεταλλάκτες υπερήχων επανασχεδιάστηκαν και παραγγέλθηκαν εκ νέου στην ίδια κατασκευάστρια εταιρία στις ΗΠΑ (Valpey Fisher Corporation, Hopkinton, MA).

Το πιεζοηλεκτρικό υλικό των μεταλλακτών (Lead Metaniobate piezoelectric material) έχει σχήμα δισκοειδές και εμπεριέχεται σε πλαστική θήκη από μη διασπώμενο βιοσυμβατό υλικό (acrylonitrile butadiene styrene, ABS). Η θήκη στην άνω επιφάνειά της, απέναντι από αυτή που έρχεται σε επαφή με το οστό, φέρει εγκοπή για την υποδοχή του ράμματος στερέωσης. Επίσης, η θήκη φέρει στα πλάγια δύο μικρές οπές για τον ίδιο σκοπό. Το σχήμα της όλης κατασκευής (μεταλλάκτης-θήκη) είναι πολύ μικρό σε μέγεθος έτσι ώστε να είναι κατάλ-





Εικ. 43. Διαγραμματική απεικόνιση της αρχιτεκτονικής του συστήματος υπερήχων για την ευόδωση και παρακολούθηση της πώρωσης.

ληλο για χειρουργική εμφύτευση (διάμετρος 8 mm, πάχος 6 mm, εικ. 44). Οι μεταλλάκτες παράγουν και λαμβάνουν επιμήκη κύματα στην ιδιοσυχνότητα συντονισμού τους (resonant frequency 1 MHz, 70% broadband). Προκειμένου για την παρακολούθηση της πώρωσης ο ένας λειτουργούσε ως πομπός και ο άλλος ως δέκτης, ενώ για τις ανάγκες της θεραπείας και οι δύο λειτουργούσαν ως πηγές εκπομπής LiUS.

### Β. Φορητή συσκευή

Η φορητή συσκευή, που ο ασθενής δύναται να φέρει συνεχώς πάνω του (wearable device) λειτουργεί με μπαταρία και είναι ειδικής κατασκευής πρωτότυπο (ANCO SA, Αττική). Για πρακτικούς λόγους υποδιαιρείται σε δύο υποσυστήματα, το δομοστοιχείο παραγωγής και λήψης υπερήχων (Sensing Module, SM) και το δομοστοιχείο ελέγχου (Control Module, CM). Το ένα υποσύστημα (SM) είναι σχεδιασμένο να προσαρμόζεται πάνω στο πλαίσιο της συσκευής εξωτερικής



Εικ. 44. Ειδικού σχεδιασμού μεταλλάκτες υπερήχων, οι οποίοι εμφυτεύθηκαν χειρουργικά επί του οστού εκατέρωθεν της οστεοτομίας (διακρίνονται οι οπές στα πλάγια και η εγκοπή στην πάνω επιφάνεια του περιβλήματος του μεταλλάκτη για την υποδοχή του ράμματος).

οστεοσύνθεσης και το άλλο (CM) μπορεί για παράδειγμα να προσαρμόζεται στη ζώνη του ασθενούς (εικ. 45).

Το υποσύστημα SM, με διαστάσεις 78 mm x 49 mm x 25 mm και βάρος 112 g, είναι ταυτόχρονα γεννήτρια και δέκτης παλμών υπερήχων χρησιμοποιώντας μια προγραμματιζόμενη αρνητικά οδεύουσα, υψηλής τάσης παλμού γεννήτρια (εύρος παλμού από 0,5 έως 10  $\mu$ s, επίπεδο τάσης από -100 V μέχρι -300 V). Ο δέκτης του υποσυστήματος είναι υπεύθυνος για την ανάκτηση, ενίσχυση (προγραμματιζόμενη απολαβή: ευαισθησία εισόδου σε πλήρη κλίμακα από 2,5 mV μέχρι 20 mV) και ψηφιοποίηση (ρυθμός δειγματοληψίας 40 Mb/s, ανάλυση 10-b) του σήματος.



Εικ. 45. Φορητή συσκευή για την ευόδωση και παρακολούθηση της πύρωσης με LiUS. Αριστερά φαίνεται το δομοστοιχείο παραγωγής και λήψης υπερήχων (Sensing Module, SI) και δεξιά το δομοστοιχείο ελέγχου (Control Module, CM). Η συσκευή μπορεί να βρίσκεται συνεχώς πάνω στον ασθενή (wearable device).

Το υποσύστημα CM, με διαστάσεις 119 mm x 49 mm x 29 mm και βάρος 186 g με τη μπαταρία (Li-Ion battery 3,6 V), είναι υπεύθυνο για την αποθήκευση των δεδομένων και την επικοινωνία. Συνδέεται με το υποσύστημα SM για λόγους τροφοδοσίας και για την μεταφορά των ανακτηθέντων από αυτό σημάτων. Η αποθηκευτική του ικανότητα ανέρχεται σε δέκα σήματα. Φέρει μικρή αφαιρετική οθόνη υγρών κρυστάλλων (2 x 12 LCD display) σε συνδυασμό με πέντε πλήκτρα διαφόρων λειτουργιών για αλληλεπίδραση με το χρήστη. Για την επικοινωνία, το υποσύστημα CM λειτουργεί ως κινητό τηλέφωνο με δυνατότητα επεξεργασίας GSM (Global System for Mobile communications) καθώς και GPRS (General Packet Radio Service) δεδομένων. Με τον τρόπο αυτό συνδέεται ασύρματα με την κε-

ντρική μονάδα για την αποστολή δεδομένων σχετικά με την παρακολούθηση της πώρωσης όπως επίσης και για τη λήψη εντολών προγραμματισμού από την πλευρά του ορθοπαιδικού χειρουργού. Ο τελευταίος μπορεί έτσι να εκτιμήσει ανά πάσα στιγμή την εξέλιξη της πώρωσης ή ακόμη να ενεργοποιήσει την έναρξη της θεραπείας με LiUS από μακριά. Εκτός από την ασύρματη επικοινωνία, το υποσύστημα CM μπορεί να συνδεθεί τοπικά με ηλεκτρονικό υπολογιστή.

#### Γ. Κεντρική μονάδα

Η κεντρική μονάδα, που μπορεί να βρίσκεται είτε στο νοσοκομείο είτε στον προσωπικό χώρο του ορθοπαιδικού χειρουργού, είναι ο υπολογιστικός πυρήνας της φορητής συσκευής και το βασικό σύστημα διαχείρισης των ασθενών. Καταγράφει δεδομένα σχετικά με τον ασθενή, αναλύει τα ανακτώμενα σήματα, παρακολουθεί την πορεία της πώρωσης και ειδοποιεί το χειρουργό, όταν κάτι παύει να εξελίσσεται ομαλά.

Η κεντρική μονάδα δομείται από τέσσερα επιμέρους υποσυστήματα: 1) αποθετήριο πληροφοριών (data repository), όπου αφενός καταχωρούνται τα ανακτώμενα σήματα των υπερήχων και αφετέρου πληροφορίες που αφορούν το ιστορικό του ασθενούς. 2) διαχειριστής ταυτόχρονης λειτουργίας (interoperability manager), ο οποίος δίνει στο χρήστη τη δυνατότητα ελέγχου και

διαχείρισης περισσότερων από μιας φορητών συσκευών. 3) σύστημα αυτόματης διάγνωσης (automated diagnosis), το οποίο με τη χρήση ευφυών τεχνικών είναι σε θέση να διακρίνει τη φυσιολογική ή όχι εξέλιξη της πώρωσης και 4) περιβάλλον αλληλεπίδρασης με το χρήστη (user interface), το οποίο προσομοιάζει με το αντίστοιχο περιβάλλον των λογισμικών που χρησιμοποιούνται για την πλοήγηση στο διαδίκτυο (web browser user interface).

#### Θεραπεία με LiUS

Τα ζώα χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες, την ομάδα θεραπείας και την ομάδα ελέγχου. Τα ζώα της ομάδας θεραπείας έλαβαν LiUS για 20 min την ημέρα από τη δεύτερη μετεγχειρητική ημέρα έως τη θυσία τους. Το σήμα των υπερήχων αποτελείτο από ριπές ημιτονοειδών κυμάτων διάρκειας 200  $\mu\text{sec}$ , κεντρικής συχνότητας 1 MHz, ρυθμού επανάληψης παλμού 1 kHz και μέσης χωρικής και χρονικής έντασης 30 mW/cm<sup>2</sup>. Στα ζώα της ομάδας ελέγχου δεν έγινε καμία παρέμβαση με υπερήχους (εικ. 46).

#### Ακτινολογικός έλεγχος

Απλές ακτινογραφίες σε δύο προβολές (προσθοπίσθια και πλάγια) ελαμβάνοντο αμέσως μετά το τέλος της χειρουργικής





συσσκευή για τη θεραπεία με LiUS  
(Sensing Module)

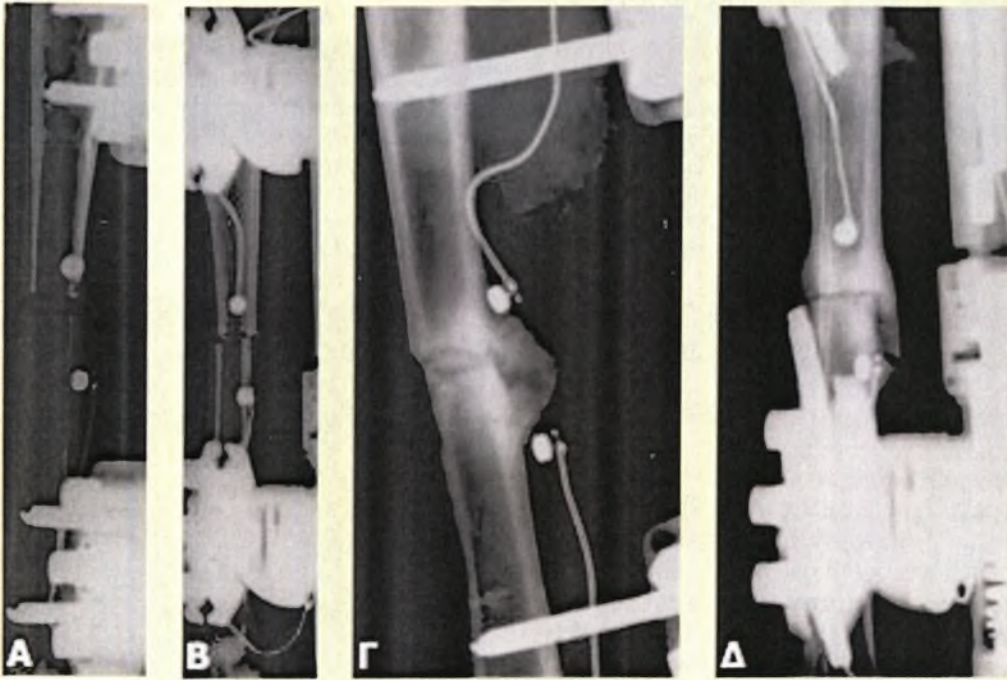
Εικ. 46. (Α) Ζώο της ομάδας ελέγχου. (Β) Στα ζώα της ομάδας θεραπείας, όπως αυτό που φαίνεται στην εικόνα, εφαρμόζονταν υπέρηχοι καθημερινά για 20 min από τη δεύτερη μετεγχειρητική ημέρα μέχρι τη θυσία τους. Η προσαρμογή της συσκευής των υπερήχων για τις ανάγκες της θεραπείας γινόταν πάνω στο πλαίσιο της εξωτερικής οστεοσύνθεσης.

επέμβασης πριν την ανάνηψη του ζώου και ακολούθως, κάθε 10 ημέρες καθ' όλη τη διάρκεια της μετεγχειρητικής περιόδου μέχρι τη θυσία των ζώων (εικ. 47). Χρησιμοποιήθηκε φορητό ακτινολογικό μηχάνημα (Philips, Nederland) και κατασκευάσθηκε ειδικό ξύλινο πλαίσιο για τη συγκράτηση της κασέτας με το ακτινολογικό φιλμ και την πλήρη επαφή του άκρου του ζώου με αυτή, ώστε να εξασφαλίζεται έτσι η άρτια λήψη της προβολής.

Η εκτίμηση των ακτινογραφιών έγινε ανεξάρτητα από δύο ορθοπαιδικούς χειρουργούς (εξεταστής Α και εξεταστής Β). Η ερμηνεία των ακτινολογικών εικόνων ανα-

φορικά με την πρόοδο και την ολοκλήρωση της πώρωσης βασίστηκε στα κριτήρια που εισήγαγε ο Heckman et al.<sup>200</sup>. Σύμφωνα με τα κριτήρια αυτά, οι παράμετροι που διερευνώνται είναι η γεφύρωση τεσσάρων φλοιών (δύο στην προσθοπίσθια και δύο στην πλάγια ακτινογραφία) σε συνδυασμό με τη σταδιακή εξαφάνιση της αρχικής ακτινοδιαφανούς γραμμής μεταξύ των κατεαγόντων οστικών τεμαχίων (μία γραμμή στην προσθοπίσθια και μία στην πλάγια προβολή). Κατά το Heckman, ένα κάταγμα θεωρείται πωρωθέν με βάση την ακτινολογική εικόνα, όταν τρεις από τους τέσσερις φλοιούς έχουν γεφυρωθεί.





Εικ. 47. Απλές ακτινογραφίες σε προσθοπίσθια και πλάγια προβολή. (Α) Άμεσα μετεγχειρητικά, προσθοπίσθια προβολή. (Β) Άμεσα μετεγχειρητικά, πλάγια προβολή. (Γ) Δύο μήνες μετά την οστεοτομία, προσθοπίσθια προβολή. Είναι χαρακτηριστικός ο σχηματισμός ευμεγέθους πώρου, ο οποίος απωθεί τους μεταλλάκτες από τον οστικό φλοιό. (Δ) Δύο μήνες μετά την οστεοτομία, πλάγια προβολή. Οι ακτινογραφίες ελήφθησαν με φορητό ακτινολογικό μηχάνημα και εκτιμήθηκαν από ανεξάρτητους εξεταστές.

### Ευθανασία και συλλογή των δοκιμίων

Η θυσία των ζώων έγινε με ευθανασία, κατόπιν ενδοφλέβιας έγχυσης νατριούχου θειοπεντάλης (Pentothal) και χλωριούχου καλίου σε υπερβολική δόση. Αυτό έγινε την εκατοστή ημέρα μετά από την εκτέλεση της οστεοτομίας (εύρος 98-102 ημέρες). Στη συνέχεια, απομακρύνθηκε η συσκευή της εξωτερικής οστεοσύνθεσης και τα μαλακά μόρια αφαιρέθηκαν πλήρως από τις δύο κνήμες του ζώου. Τα οστικά δοκίμια (εικ. 48) συγκεντρώθηκαν, ταυτοποιήθηκαν και

συντηρήθηκαν σε βαθεία κατάψυξη υπό τους  $-20^{\circ}\text{C}$  μέσα σε διπλούς αεροστεγείς σάκους. Με τον τρόπο αυτό δεν αλλοιώνονται οι μηχανικές τους ιδιότητες.

### Οστική πυκνομετρία

Η οστική πυκνότητα (BMD) μετρήθηκε στα οστικά δοκίμια της κατεαγούσης και της ετερόπλευρης υγιούς κνήμης με ποσοτική υπολογιστική τομογραφία (QCT). Χρησιμοποιήθηκε υπολογιστικός τομογράφος Philips Secura και οι ρυθμίσεις που έγιναν για τις



Επάνω: Τα οστικά δοκίμια αφότου θυσιιάστηκαν τα ζώα, 100 ημέρες μετά από την οστεοτομία. Η συσκευή της εξωτερικής οστεοσύνθεσης έχει απομακρυνθεί και τα μαλακά μέρια έχουν αφαιρεθεί πλήρως. Είναι εμφανής ο σχηματισμός ευμεγέθους πώρου και διακρίνονται οι θέσεις όπου είχαν τοποθετηθεί οι μεταλλάκτες.

Κάτω: Λεπτομέρεια, όπου φαίνεται ο πώρος και τα χαρακτηριστικά εντυπώματα που υποδηλώνουν τις θέσεις που είχαν τοποθετηθεί οι μεταλλάκτες.



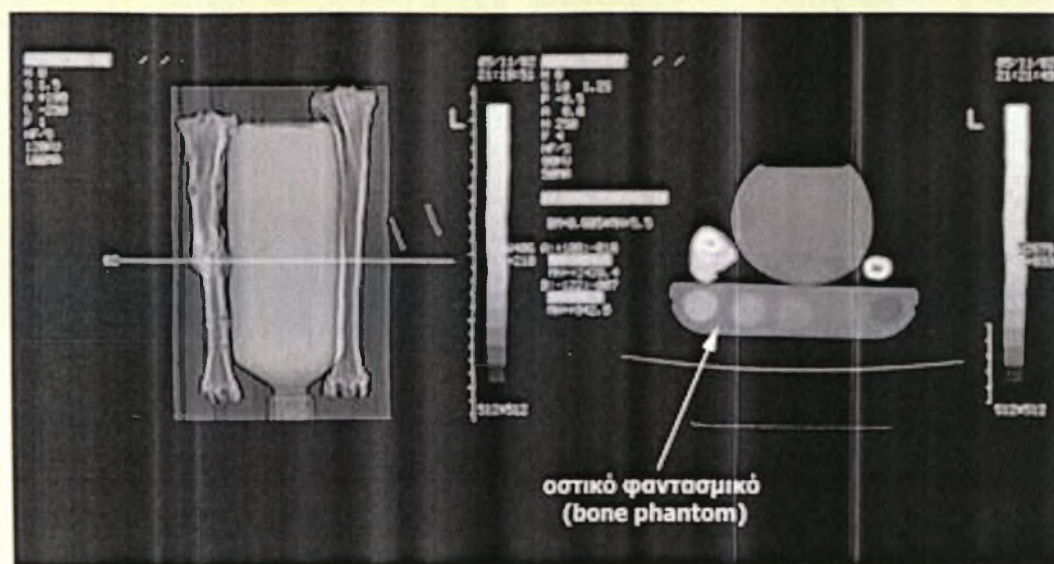
Εικ. 48. Οστικά δοκίμια που ελήφθησαν μετά από την ευθανασία των ζώων

ανάγκες της συγκεκριμένης εξέτασης ήταν 140 kV, 220 mA, πάχος τομής 2 mm με απόσταση μεταξύ των τομών 1 mm.

Για να υπολογιστεί η οστική πυκνότητα από τις μονάδες Hounsfield χρησιμοποιήθηκε κατά τη διάρκεια της σάρωσης συμπαγές οστικό φανταστικό (bone phantom), το οποίο περιείχε πέντε δείγματα που το καθένα αντιστοιχούσε σε συγκεκριμένη συγκέντρωση υδροξυαπατίτη (εικ. 49). Η σάρωση του οστικού δοκιμίου με την οστεοτομία αφορούσε μια περιοχή μήκους 50 mm που περιελάμβανε το νεοσχηματισθέντα πώρο. Ελήφθησαν συνολικά 49 τομές μέσα στα όρια της περιοχής αυτής. Από το οστικό δοκίμιο της υγιούς κνήμης ελήφθησαν δύο

μόνο τομές στα όρια μιας περιοχής μήκους 3 mm σε επίπεδο αντίστοιχο με την οστεοτομία. Οι εικόνες από τον υπολογιστικό τομογράφο δεν εκτυπώθηκαν σε φιλμ, αλλά αποθηκεύτηκαν σε οπτικό δίσκο με ειδικό ψηφιακό μορφότυπο (DICOM format) και επεξεργάστηκαν περαιτέρω με τη χρήση του ειδικού λογισμικού Analyze 4.0 (Mayo Foundation, Rochester, MN). Κρίναμε σκόπιμο, για την πιο άρτια αξιολόγηση των αποτελεσμάτων, να μην αρκεστούμε μόνο στις ήδη υπάρχουσες τεχνικές οστικής πυκνομετρίας (QCT), αλλά να εκμεταλλευτούμε στο έπακρο όλες τις σύγχρονες δυνατότητες της πληροφορικής και των ηλεκτρονικών υπολογιστών. Έτσι, αναπτύξαμε μια νέα με-



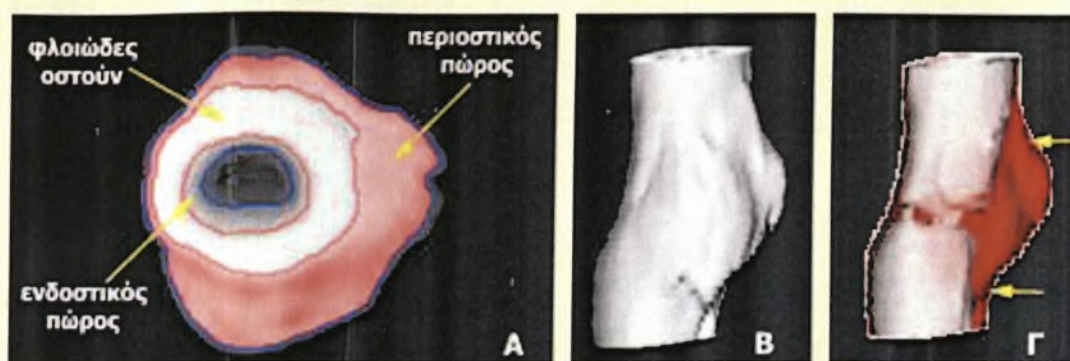


Εικ. 49. Ποσοτική υπολογιστική τομογραφία (Quantitative Computerized Tomography, QCT). Στην αριστερή εικόνα έχει γίνει σάρωση ολόκληρων των οστικών δοκιμών. Δεξιά, απεικονίζεται μια εγκάρσια τομή στο ύψος της οστεοτομίας όπου φαίνεται ο πύρος. Το οστικό φανταστικό (bone phantom) περιέχει πέντε δείγματα που αντιστοιχούν σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις υδροξυαπατίτη.

θοδολογία που συνδυάζει και τη χρήση του λογισμικού Analyze. Η περιγραφή της ακολουθεί συνοπτικά στην επόμενη παράγραφο.

Η βασική ιδέα της μεθόδου στηρίζεται στην τμηματοποίηση (segmentation) της περιοχής του πύρου, έτσι ώστε η οστική πυκνότητα που μετρείται να αφορά μόνο το νεοσχηματισθέντα πύρο αφήνοντας εκτός το φλοιώδες οστόν. Αρχικά υπολογίζεται η μέση τιμή BMD της ετερόπλευρης υγιούς κνήμης. Σε κάθε μία από τις δύο τομές επιλέγεται ένα αρχικό σημείο μέσα στα όρια του οστικού φλοιού (seed point) και ακολούθως, δίνεται εντολή στο λογισμικό να

οριοθετήσει επακριβώς την περιοχή που καταλαμβάνει το φλοιώδες οστόν με κατώφλι την τιμή  $200 \text{ mg/cm}^3$ <sup>201</sup>. Στη συνέχεια υπολογίζεται η μέση τιμή BMD για την περιοχή της κάθε τομής και μετά την τρισδιάστατη ανακατασκευή, το λογισμικό είναι σε θέση να υπολογίσει τη μέση τιμή BMD που αντιστοιχεί στο συνολικό όγκο του οστικού φλοιού της υγιούς κνήμης. Η ίδια διαδικασία ακολουθείται και σε όλες τις τομές που έχουν ληφθεί από την κνήμη με την οστεοτομία, μόνο που εδώ γίνεται τμηματοποίηση της περιοχής του πύρου. Συγκεκριμένα, επιλέγοντας τα αρχικά σημεία μέσα



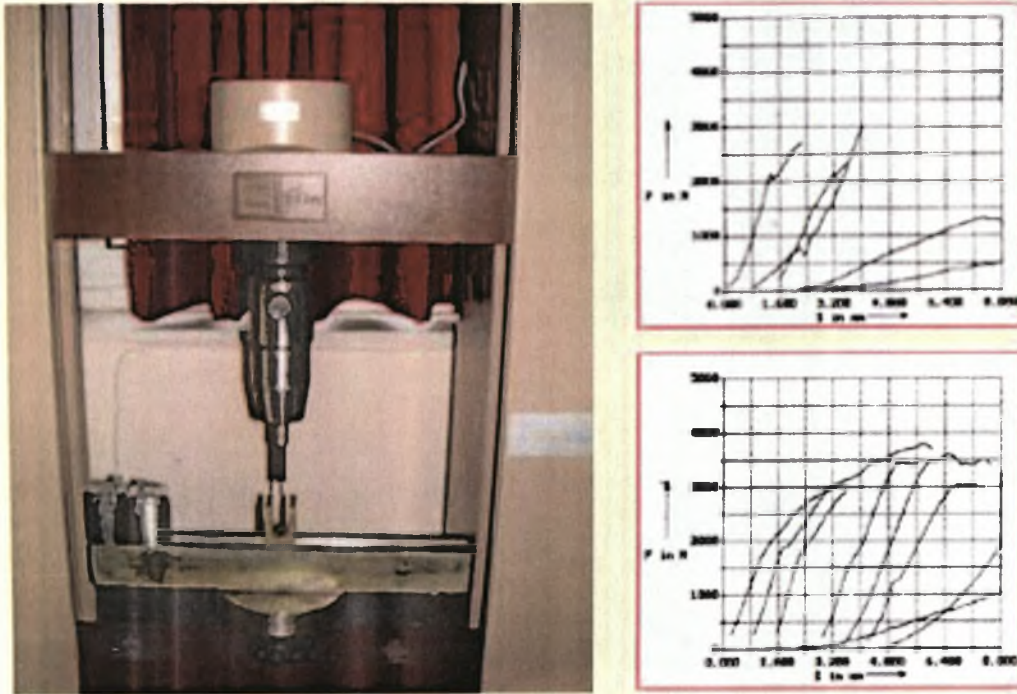
Εικ. 50. (Α) Τμηματοποίηση (segmentation) της τομής QCT στις περιοχές που αντιστοιχούν στον οστικό φλοιό, τον ενδοστικό και τον περιοστικό πώρο. (Β) Τρισδιάστατη ανακατασκευή του οστικού δοκιμίου στην περιοχή του πώρου (προσθοπίσθια άποψη). (Γ) Εικονική χρωματική αναπαράσταση του νεοσχηματισθέντος πώρου. Η εικόνα έχει υποστεί εμπλουτισμό για καλύτερη απεικόνιση του πώρου. Τα δύο βέλη δείχνουν τις θέσεις όπου είχαν τοποθετηθεί οι μεταλλάκτες.

στον αυλό του οστού, στο φλοιό και έξω από αυτόν, δίδεται η εντολή στο λογισμικό να οριοθετήσει επακριβώς τις περιοχές που αφορούν τον ενδοστικό πώρο, τον οστικό φλοιό και τον περιοστικό πώρο (εικ. 50Α). Το κατώφλι για τον προσδιορισμό του φλοιού παραμένει το ίδιο ( $200 \text{ mg/cm}^3$ ), ενώ προκειμένου για τον πώρο, το κατώφλι ορίζεται εμπειρικά (μέση τιμή BMD της ετερόπλευρης υγιούς κνήμης μείον δύο σταθερές αποκλείσεις). Μετά τον υπολογισμό της μέσης τιμής BMD των περιοχών του πώρου σε κάθε επιμέρους τομή, γίνεται τρισδιάστατη ανακατασκευή και υπολογίζεται η μέση τιμή BMD του συνολικού όγκου του πώρου (εικ. 50Β,Γ).

### Εμβιομηχανική δοκιμασία

Η εμβιομηχανική αξιολόγηση των οστικών δοκιμίων της κατεαγούσης και της ετερόπλευρης υγιούς κνήμης έγινε στο εργαστήριο Οστικής Παθολογίας και Μεταβολισμού των Οστών του Γ.Ν Αττικής "ΚΑΤ" με χρήση ειδικής για εμβιομηχανικές δοκιμασίες μηχανικής συσκευής (Frank, Prüfen and Messen, Switzerland). Η εν λόγω συσκευή συνδέεται με ηλεκτρονικό υπολογιστή για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων με τη μορφή γραφικής παράστασης σε ορθογώνιο σύστημα συντεταγμένων (load-deflection curve), όπου στον κατακόρυφο άξονα (Y) παρίσταται η φόρτιση σε Newton και στον οριζόντιο άξονα (X) η παραμόρφωση του υλικού σε mm (εικ. 51).



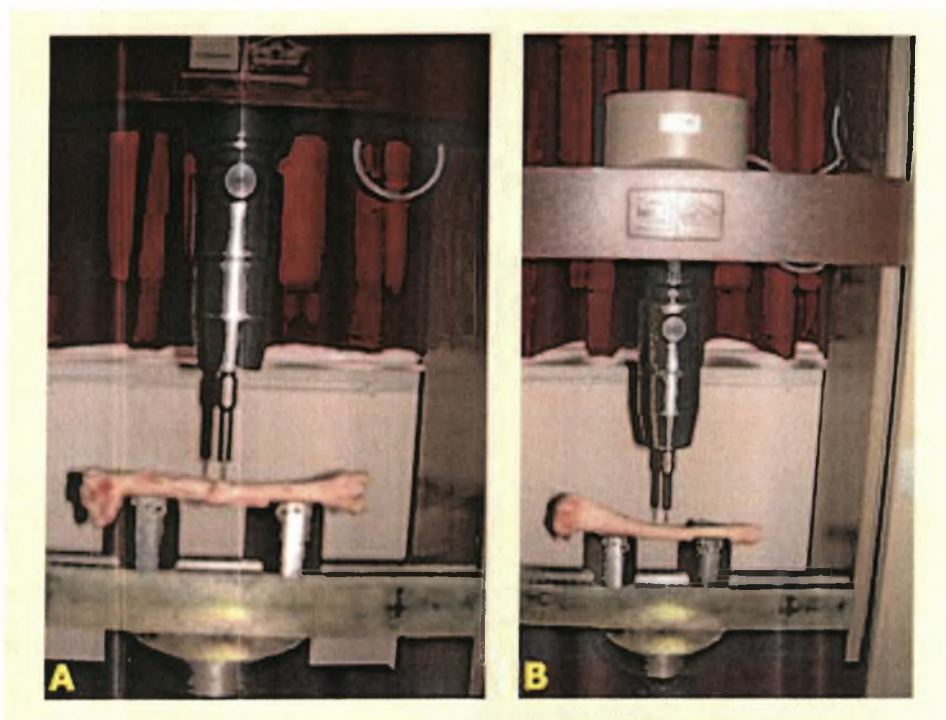


Εικ. 51. Στο αριστερό μέρος της εικόνας φαίνεται η μηχανική συσκευή που χρησιμοποιήθηκε για την εμβιομηχανική δοκιμασία. Δεξιά, τα εξαγόμενα αποτελέσματα με τη μορφή γραφικής παράστασης (load-deflection curve). Άξονας (Y): Newton, Άξονας (X): mm

Τα οστικά δοκίμια αξιολογήθηκαν εμβιομηχανικά με τη δοκιμασία παραμόρφωσης και θραύσης τριών σημείων. Πριν από τη δοκιμασία, τα δοκίμια αφέθηκαν να ξεπαγώσουν σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθως, τοποθετήθηκαν οριζόντια πάνω στις δύο ειδικά διαμορφωμένες υποστηρικτικές βάσεις της μηχανικής συσκευής σε, τρόπο ώστε οι αποστάσεις μεταξύ της κάθε βάσης και του επιπέδου της οστεοτομίας να είναι ίσες μεταξύ τους. Η απόσταση μεταξύ των βάσεων υποστήριξης ήταν 110 mm. Η κεφαλή του εμβόλου της μηχανικής συσκευής ήταν στρογγυλή ώστε κατά την πίεση του

οστικού δοκιμίου να ελαχιστοποιούνται οι δυνάμεις διάτμησης και η κοπή αυτού. Η εφαρμογή της γινόταν κάθετα επί του οστού στο επίπεδο του κατάγματος, με την ταχύτητα καθόδου του εμβόλου να διατηρείται σταθερή (20 mm/min) καθ' όλη τη διάρκεια της δοκιμασίας μέχρι τη στιγμή της θραύσης του δοκιμίου (εικ. 52).

Μετρήθηκαν τα φορτία θραύσης και κατεγράφησαν όλες οι καμπύλες παραμόρφωσης σε συνάρτηση με το φορτίο. Η ακαμψία (stiffness) του πώρου υπολογίστηκε από την κλίση του γραμμικού τμήματος της καμπύλης και ο συντελεστής ελαστικότητας



Εικ. 52. (Α) Εμβιομηχανική δοκιμασία παραμόρφωσης-θραύσης τριών σημείων της κατεαγούσης κνήμης και (Β) της ετερόπλευρης υγιούς κνήμης. Οι παράμετροι της δοκιμασίας αναγράφονται στο κείμενο.

(Young's modulus,  $E$ ) μαζί με τη μέγιστη αντοχή (ultimate strength,  $\sigma$ ) προέκυψαν από τους κάτωθι τύπους:

$$E = \frac{F}{d} \cdot \frac{L^3}{48I} \quad (1)$$

$$\sigma = \frac{FLc}{4I} \quad (2)$$

όπου  $c$  η απόσταση της κεφαλής του εμβόλου από το κέντρο μάζας του πώρου,  $F$  το φορτίο που εφαρμόζεται,  $d$  η παραμόρφωση,  $L$  η απόσταση μεταξύ των βάσεων υποστήριξης και  $I$  η ροπή αδράνειας του πώρου σε εγκάρσια διατομή. Εξαιτίας του περίπλοκου και ανώμαλου σχήματος του περισστικού πώρου και για να αποφευχθεί η προσεγγιστική συχνά χρησιμοποιούμενη ελλειπτική

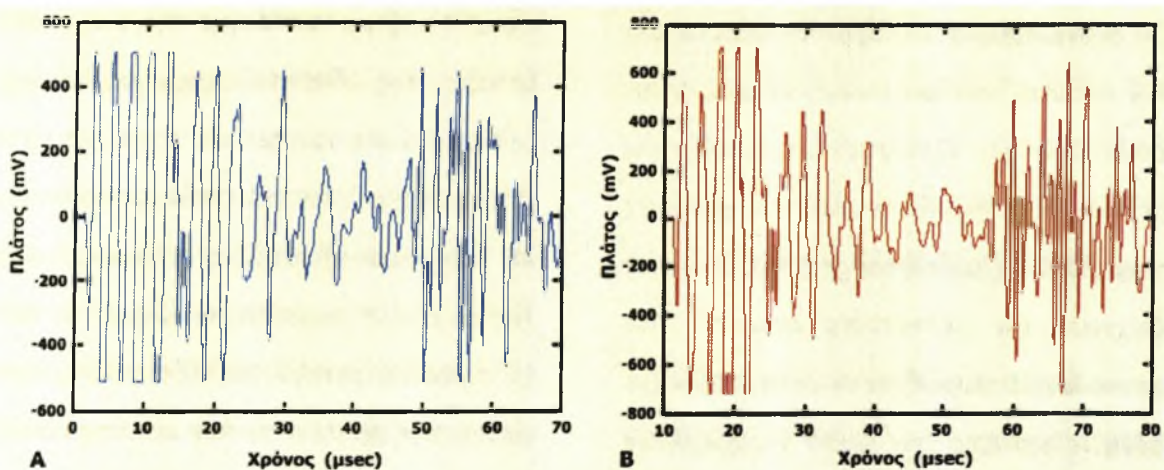
ή κυκλική επιφάνεια διατομής του οστού, η θέση του κέντρου μάζας και η ροπή αδράνειας του πώρου σε εγκάρσια διατομή υπολογίστηκαν από τις αντίστοιχες τομές QCT με τη χρήση του προαναφερθέντος λογισμικού (Analyze 4.0). Επιπρόσθετα, θεωρούμε ότι ο ουδέτερος άξονας λυγισμού περνάει από το κέντρο μάζας του πώρου. Επειδή η τιμή του συντελεστή ελαστικότητας (Young's modulus) υποεκτιμάται στη δοκιμασία παραμόρφωσης και θραύσης τριών σημείων, λόγω των αναπτυσσόμενων δυνάμεων διάτμησης, χρησιμοποιήθηκε η κλίση του ελαστικού τμήματος της καμπύλης για να υπολογιστεί η σχέση  $F/d$ .

### Ανάλυση του ανακτηθέντος σήματος των υπερήχων

Σε 30 ζώα εμφυτεύτηκαν χειρουργικά οι μεταλλάκτες υπερήχων (20 της ομάδας θεραπείας και 10 τη ομάδας ελέγχου) και χρησιμοποιήθηκαν για την παρακολούθηση της εξέλιξης της πώρωσης. Σε όλα τα ζώα με τους μεταλλάκτες οι καταγραφές των σημάτων υπερήχων γίνονταν στις ακόλουθες χρονικές περιόδους: α) στο άθικτο οστό πριν από την εκτέλεση της οστεοτομίας, β) αμέσως μετά, γ) κάθε δέκα ημέρες μέχρι και την τριακοστή μετεγχειρητική ημέρα και δ) κάθε τέσσερις ημέρες από την τριακοστή πρώτη μετεγχειρητική ημέρα μέχρι τη θυσία του ζώου. Το κάθε σήμα έχει διάρκεια 200  $\mu$ s, ανάλυση 10-b και ρυθμό δειγματοληψίας 40 Mb/s. Ο μεταλλάκτης-πομπός διεγείρετο από αρνητικά οδεύουσα τάση παλμού -200 V, διάρκειας 0,5  $\mu$ s. Το καταγραφόμενο σή-

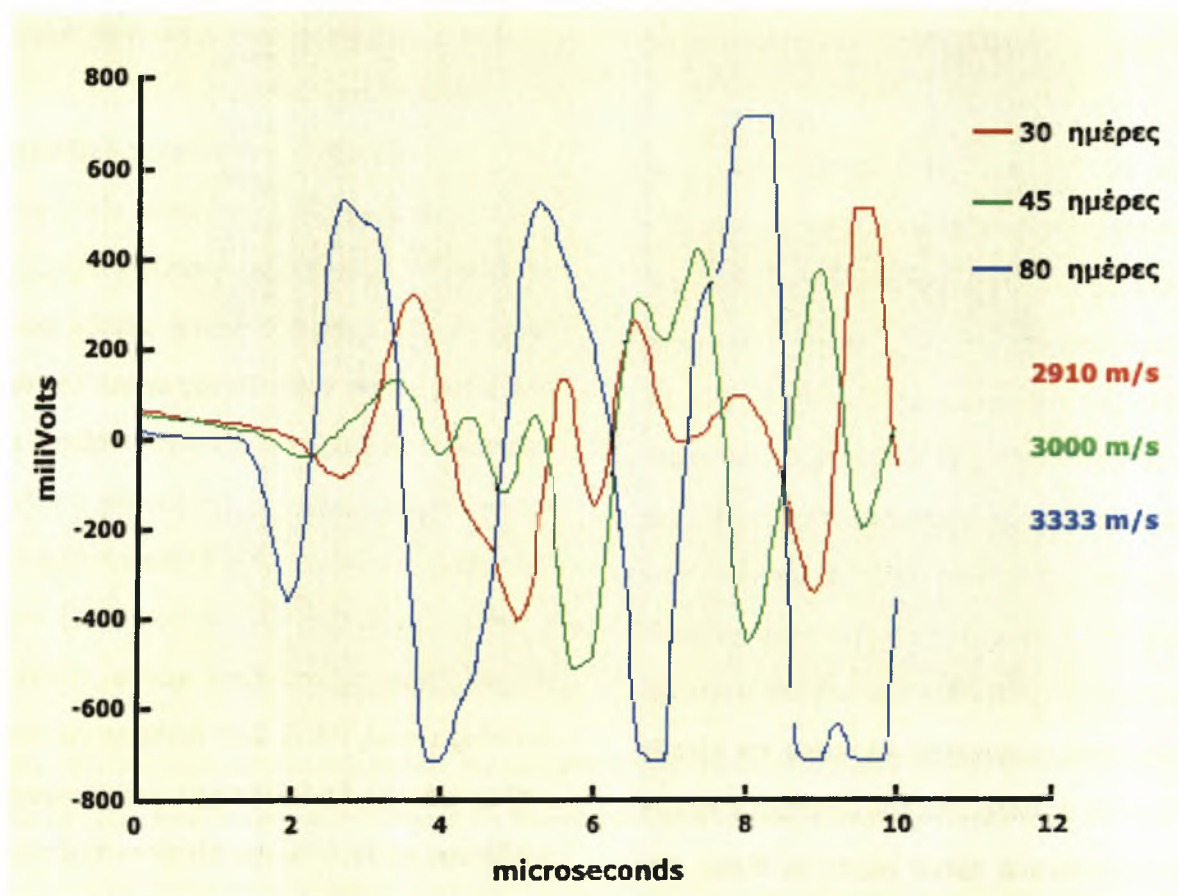
μα είναι η μέση κυματομορφή οκτώ επιτυχημένων ανακτήσεων (εικ. 53).

Η μεταβολή της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων, καθώς η πώρωση εξελίσσεται (εικ. 54), είναι η σημαντικότερη παράμετρος για την πρώιμη διάκριση μεταξύ πωρωθέντος και μη πωρωθέντος οστού. Για να υπολογιστεί η ταχύτητα χρησιμοποιήθηκε η σχέση  $d/(TOF)$ , όπου  $d$  η απόσταση μεταξύ των μεταλλακτών και TOF (time-of-flight) ο χρόνος μετάβασης (transition time) του σήματος που καταφτάνει πρώτο (first-arriving signal, FAS). Σαν κριτήριο για τον καθορισμό του FAS ορίστηκε ένα κατώφλι ισοδύναμο με το 10% του μέγιστου πλάτους του πρώτου σήματος. Αυτό ελαχιστοποιεί τον εσφαλμένο υπολογισμό του TOF, αντίθετως με άλλα κριτήρια, τα οποία επηρεάζονται από τη συχνότητα, την εξασθένηση, τη συμβολή και άλλα κυματικά φαινόμενα.



Εικ. 53. Ανακτηθέντα σήματα και η αντίστοιχη καταγραφή τους με τη μορφή κυματομορφής (Α) ογδοηκοστή μετεγχειρητική ημέρα και (Β) τριακοστή μετεγχειρητική ημέρα.





Εικ. 54. Διαφορετικά σήματα υπερήχων στο ίδιο ζώο, λόγω μεταβολής της ταχύτητας του κύματος, καθώς η πώρωση εξελίσσεται. Δεξιά στην εικόνα αναγράφονται οι ημέρες μετά την οστεοτομία που αντιστοιχούν σε κάθε κυματομορφή και οι μέγιστες ταχύτητες που κατεγράφησαν.

### Στατιστική ανάλυση

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν μετά από την ανάλυση των ακτινολογικών γνωματεύσεων των δύο εξεταστών παρουσιάζονται με τρεις μορφές: α) συσσωρευτικές γραφικές παραστάσεις (cumulative graphs), οι οποίες δείχνουν την εκατοστιαία αναλογία των ακτινολογικά πωρωθέντων καταγμάτων (με βάση το κριτήριο των τριών γεφυρωμένων φλοιών) της ομάδας θεραπείας και της ομάδας ελέγχου σε συνάρτηση με το χρόνο,

β) δοκιμή ακριβείας κατά Fisher (Fisher's exact test) για τον έλεγχο της συσχέτισης μεταξύ της θεραπευτικής παρέμβασης (υπέρηχοι) και του τελικού αποτελέσματος (πώρωση ή μη) την τελευταία μετεγχειρητική ημέρα και γ) καμπύλες επιβίωσης κατά Kaplan-Meier με χρήση του Log-rank test. Η συμφωνία μεταξύ των εξεταστών, όσον αφορά την αξιολόγηση των ακτινογραφιών, προσδιορίστηκε με τη χρήση του Kappa statistic. Η στατιστική ισχύς της μελέτης



υπολογίστηκε με τη χρήση των αναλογιών επιβίωσης των ζώων της κάθε ομάδας την εκατοστή μετεγχειρητική ημέρα. Η μη παραμετρική δοκιμή κατά Wilcoxon (Wilcoxon non-parametric test) χρησιμοποιήθηκε για να συγκρίνει τις διαφορές στην οστική πυκνότητα και τις εμβιομηχανικές ιδιότητες μεταξύ των ζώων της ομάδας θεραπείας και της ομάδας ελέγχου. Προκειμένου να εξακριβωθεί η ομοιογένεια του πληθυσμού των ζώων στις ομάδες θεραπείας και ελέγχου χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής μεταβολής (coefficient variation, CV) για τη σύγκριση των πυκνομετρικών και εμβιομηχανικών ιδιοτήτων των ετερόπλευρων υγιών κνημών σε κάθε ομάδα.

Η μη παραμετρική δοκιμή κατά Wilcoxon χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση των διαφορών στην ταχύτητα των υπερήχων μεταξύ των ακτινολογικά πωρωθέντων και μη πωρωθέντων οστών σε διαφορετικές χρονικές στιγμές. Για την αξιολόγηση της διαγνωστικής επίδοσης των υπερήχων, αναφορικά με τη διάκριση μεταξύ πωρωθέντων και μη πωρωθέντων οστών χρησιμοποιήθηκαν οι καμπύλες λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη, ROC (Receiver Operating Characteristic curve analysis). Η όλη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πακέτο λογισμικού SPSS v12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

## Αποτελέσματα

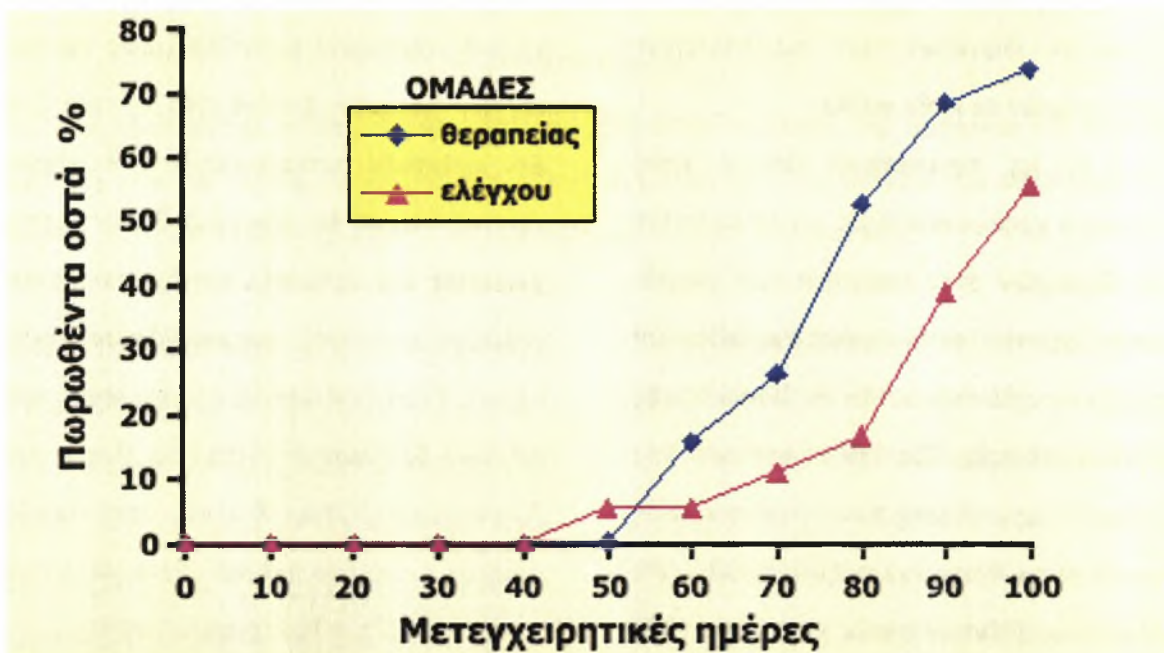
Από τα 40 ζώα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη, τα 37 επέζησαν μέχρι το τέλος αυτής (19 ζώα από την ομάδα θεραπείας και 18 από την ομάδα ελέγχου). Ένα ζώο χάθηκε διεγχειρητικά κατά τη διάρκεια της αναισθησίας και δύο κατά τη μετεγχειρητική περίοδο εξαιτίας πνευμονικής λοίμωξης και θρομβοεμβολής αντίστοιχα. Τρία ζώα (ένα από την ομάδα θεραπείας και δύο από την ομάδα ελέγχου) ανέπτυξαν επιπολής φλεγμονή στα σημεία εισόδου των βελονών της εξωτερικής οστεοσύνθεσης. Στα ζώα αυτά η φλεγμονή αντιμετωπίστηκε με τοπική καθημερινή φροντίδα χωρίς αφαίρεση των βελονών. Κανένα από τα τρία ζώα δεν ανέπτυξε οστεομυελίτιδα. Το σύνολο των ακτινογραφιών που ελήφθησαν μετεγχειρητικά δεν κατέδειξε αντιδραστική ακτινοδιαυγή άλω πέριξ των μεταλλακτών υπερήχων. Κατά τη διάρκεια της συλλογής των οστικών δοκιμών μετά από τη θυσία των ζώων παρατηρήθηκε έντονος σχηματισμός ινώδους ιστού στα μαλακά μόρια γύρω από τους μεταλλάκτες χωρίς σημεία σήψης.

## Επίδραση των LiUS στην πώρωση

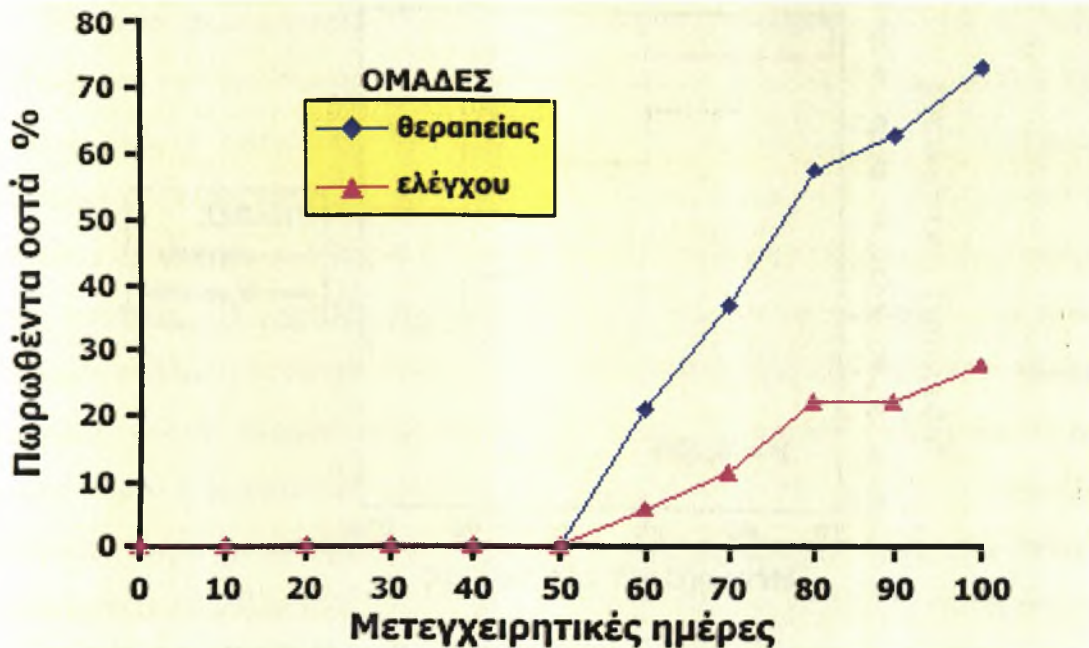
Ολόκληρη η σειρά των μετεγχειρητικών ακτινογραφιών για το κάθε ζώο ξεχωριστά αξιολογήθηκε ανεξάρτητα από δύο ορθοπαι-

δικούς χειρουργούς (εξεταστής Α και εξεταστής Β) με τη χρήση των κριτηρίων που εισήγαγε ο Heckman. Τα αποτελέσματα της αξιολόγησης των ακτινογραφιών παρουσιάζονται με τη μορφή συσσωρευτικών γραφικών παραστάσεων, στις οποίες φαίνεται η εκατοστιαία αναλογία των ζώων που εμφάνισαν πύρωση ακτινολογικά σε συνάρτηση με το χρόνο μετά από την εκτέλεση της οστεοτομίας (εικ. 55, 56). Κάθε διάγραμμα απαρτίζεται από δύο καμπύλες, οι οποίες αντιστοιχούν η μια στην ομάδα θεραπείας και η άλλη στην ομάδα ελέγχου. Σύμφωνα με το Heckman, το κριτήριο για την εμφά-

νιση πύρωσης στις ακτινογραφίες είναι η γεφύρωση των τριών από τους τέσσερις οστικούς φλοιούς που απεικονίζονται στην προσθιοπίσθια και την πλάγια προβολή. Από τα διαγράμματα καθίσταται εμφανές ότι η εκατοστιαία αναλογία των πωρωθέντων καταγμάτων της ομάδας θεραπείας ήταν σαφώς υψηλότερη από αυτή των πωρωθέντων καταγμάτων της ομάδας ελέγχου. Μετά την πάροδο 100 ημερών από τη χειρουργική επέμβαση, η παραπάνω αναλογία ήταν 73,7% στην ομάδα θεραπείας και 55,6% στην ομάδα ελέγχου σύμφωνα με τον εξεταστή Α ( $p = 0,467$ , Fisher's exact test). Με



Εικ. 55. Συσσωρευτική γραφική παράσταση στην οποία φαίνεται η εκατοστιαία αναλογία των ζώων που εμφάνισαν πύρωση ακτινολογικά σε συνάρτηση με το χρόνο που παρήλθε μετά από την οστεοτομία. Ο χρόνος αυτός οριοθετείται μέχρι και την εκατοστή μετεγχειρητική ημέρα, κατά την οποία έγινε η θυσία των ζώων. Κριτήριο για την εμφάνιση ακτινολογικής πύρωσης είναι η γεφύρωση των τριών από τους τέσσερις φλοιούς στις προσθιοπίσθιες και πλάγιες ακτινογραφίες. Το διάγραμμα αφορά την αξιολόγηση του εξεταστή Α.



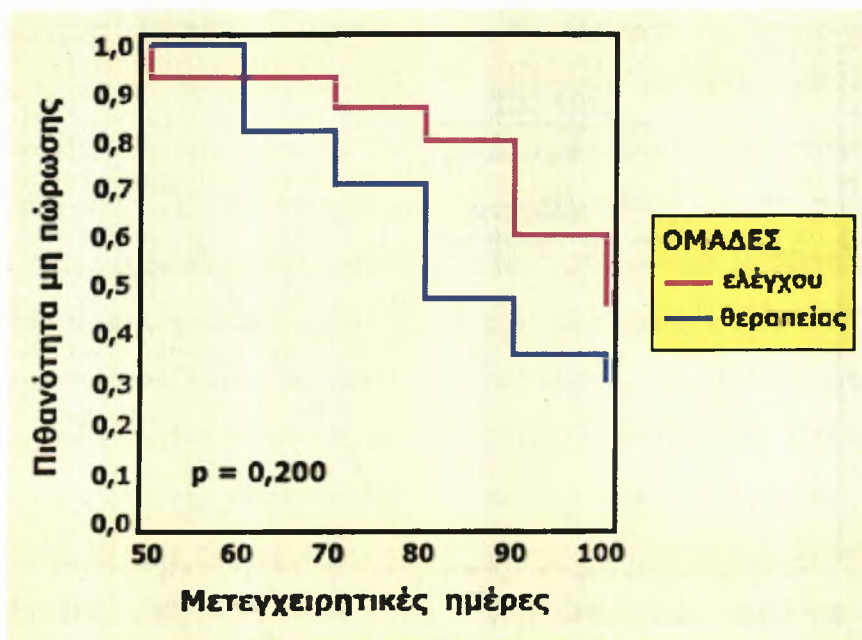
Εικ. 56. Συσσωρευτική γραφική παράσταση στην οποία φαίνεται η εκατοστιαία αναλογία των ζώων που εμφάνισαν πύρωση ακτινολογικά σε συνάρτηση με το χρόνο που παρήλθε μετά από την οστεοτομία. Ο χρόνος αυτός οριοθετείται μέχρι και την εκατοστή μετεγχειρητική ημέρα, κατά την οποία έγινε η θυσία των ζώων. Κριτήριο για την εμφάνιση ακτινολογικής πύρωσης είναι η γεφύρωση των τριών από τους τέσσερις φλοιούς στις προσθιοπίσθιες και πλάγιες ακτινογραφίες. Το διάγραμμα αφορά την αξιολόγηση του εξεταστή Β.

βάση την αξιολόγηση του εξεταστή Β, η αναλογία ήταν 78,9% στην ομάδα θεραπείας και 27,8% στην ομάδα ελέγχου ( $p = 0,012$ ). Η διαφορά μεταξύ των δύο εξεταστών οφείλεται στη μέτρια μεταξύ τους συμφωνία ως προς την αξιολόγηση της ακτινολογικής πύρωσης ( $\kappa = 0,43$ ).

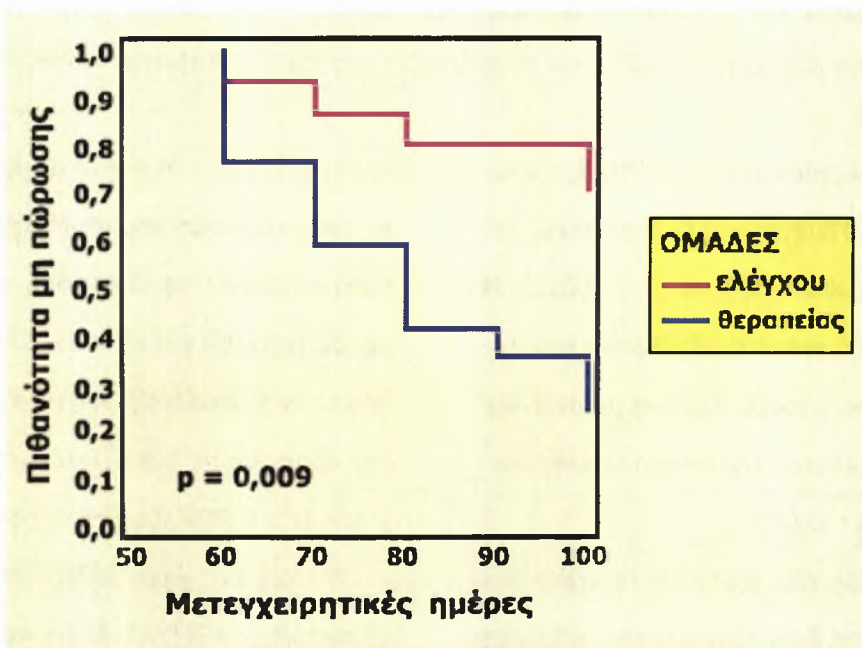
Εξαιτίας του γεγονότος ότι δεν εμφάνισαν όλα τα ζώα ακτινολογική πύρωση κατά την περίοδο παρακολούθησης μετεγχειρητικά (100 ημέρες), δεν είναι δυνατό να υπολογιστεί ξεχωριστά ο μέσος χρόνος πύρωσης των ομάδων θεραπείας και ελέγχου. Έτσι, πραγματοποιήθηκε επιπρόσθετα ανά-

λυση επιβίωσης (survival analysis) με χρήση των καμπυλών Kaplan-Meier. Η ανάλυση αυτή κατέδειξε μη στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p > 0,05$ ) μεταξύ των δύο ομάδων ως προς την πιθανότητα ακτινολογικής πύρωσης σύμφωνα με την αξιολόγηση του εξεταστή Α ( $p = 0,200$ , Log-rank test). Η διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες ήταν στατιστικά σημαντική ( $p = 0,009$ ) όπως προκύπτει από την αξιολόγηση του εξεταστή Β (εικ. 57, 58). Παρόλα αυτά, και στις δύο αξιολογήσεις η πιθανότητα μη εμφάνισης πύρωσης ακτινολογικά είναι σαφώς υψηλότερη στα ζώα της ομάδας ελέγχου. Ο ενδιάμε-





Εικ. 57. Ανάλυση επιβίωσης με χρήση των καμπυλών Kaplan-Meier (Kaplan-Meier survival analysis με χρήση του Log-rank test) για τη σύγκριση της πιθανότητας ακτινολογικής πώρωσης (γεφύρωση τριών από τους τέσσερις φλοιούς) μεταξύ των ομάδων θεραπείας και ελέγχου. Η ανάλυση έγινε με βάση την αξιολόγηση του εξεταστή Α.



Εικ. 58. Ίδια ανάλυση όπως αυτή της προηγούμενης εικόνας με βάση την αξιολόγηση του εξεταστή Β.

σος χρόνος επιβίωσης (median survival time) είναι 100 ημέρες για την ομάδα ελέγχου και 80 ημέρες για την ομάδα θεραπείας

σύμφωνα με τον εξεταστή Α, ενώ σύμφωνα με τον εξεταστή Β οι χρόνοι αυτοί είναι >100 ημέρες και 80 ημέρες αντίστοιχα.



Παρόμοια συμπεράσματα μετά από την αξιολόγηση των ακτινογραφιών εξαγονται και με βάση το κριτήριο Heckman, το οποίο προϋποθέτει τη γεφύρωση και των τεσσάρων φλοιών στις προσθιοπίσθιες και πλάγιες προβολές. Τα αποτελέσματα από την ανάλυση επιβίωσης σε όλα τα ενδιάμεσα στάδια ακτινολογικής πύρωσης παρατίθενται στον πίνακα 6. Η στατιστική ισχύς της μελέτης όσον αφορά την κατάδειξη σημαντικών διαφορών ( $p < 0,05$ ) ήταν 30% και 81% ακολούθως προς τις αξιολογήσεις των εξεταστών Α και Β αντίστοιχα.

Μετά από τη θυσία των ζώων και τη συλλογή των οστικών δοκιμίων, βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην οστική πυκνότητα του πύρου μεταξύ των ομάδων θεραπείας και ελέγχου. Η μέση οστική πυ-

κνότητα του πύρου στα ζώα της ομάδας θεραπείας ήταν 870 (εύρος: 670 - 1293)  $\text{mg}/\text{cm}^3$ , ενώ στα ζώα της ομάδας ελέγχου ήταν 691 (εύρος: 584 - 1390)  $\text{mg}/\text{cm}^3$  ( $p = 0,003$ , Wilcoxon non-parametric test). Τα αποτελέσματα των μετρήσεων της οστικής πυκνότητας παρουσιάζονται στον πίνακα 7, ο οποίος περιλαμβάνει επίσης και τις τιμές της μέσης οστικής πυκνότητας εκφραζόμενες ως εκατοστιαία αναλογία σε σχέση με την οστική πυκνότητα της άθικτης κνήμης.

Η εμβιομηχανική δοκιμασία λυγισμού και θραύσης τριών σημείων κατέδειξε ότι οι τιμές του φορτίου θραύσης (breaking load), της ακαμψίας (stiffness), του συντελεστή ελαστικότητας (Young's modulus) και της μέγιστης αντοχής (ultimate strength), εκφραζόμενες ως εκατοστιαία αναλογία, ήταν

Στάδια Ακτινολογικής Πύρωσης	Εξεταστής Α			Εξεταστής Β		
	Μέσος Χρόνος Επιβίωσης		P-value (Log-rank)	Μέσος Χρόνος Επιβίωσης		P-value (Log-rank)
	Ομάδα Θεραπείας	Ομάδα Ελέγχου		Ομάδα Θεραπείας	Ομάδα Ελέγχου	
<i>Αριθμός γεφυρωμένων φλοιών</i>						
1 από 4	69	78	0.041	65	76	0.880
2 από 4	75	80	0.167	65	80	0.500
3 από 4	80	100	0.200	80	>100	0.009
4 από 4	85	>100	0.113	85	>100	0.020
<i>Αριθμός μη εμφανών καταγματικών γραμμών</i>						
1 από 2	95	>100	0.164	95	>100	0.021
2 από 2	100	>100	0.321	95	>100	0.027

Πιν. 6. Μέσος χρόνος επιβίωσης σε ημέρες που χρειάστηκαν τα ζώα της ομάδας θεραπείας και ελέγχου για να εμφανίσουν ενδιάμεση και πλήρη πύρωση ακτινολογικά, σύμφωνα με τα κριτήρια Heckman.

	Ομάδα Θεραπείας	Ομάδα Ελέγχου	P-value Wilcoxon	Άθικτη Κνήμη (ομάδα θεραπείας)	Άθικτη Κνήμη (ομάδα ελέγχου)
Οστική Πυκνότητα του Πύρου (mg/cm <sup>3</sup> )	870.4 (670 – 1293) (771 – 1012)	691 (584 – 1390) (618 – 848)	0.003	1555.6 ± 80.5 (5.17% CV)	1574.7 ± 77.6 (4.93% CV)
Λόγος Οστικής Πυκνότητας πύρος/άθικτο οστό	0.53 (0.42 – 0.89) (0.47 – 0.70)	0.43 (0.37 – 0.89) (0.39 – 0.52)	0.003	-	-

Πιν. 7. Μέσες απόλυτες και σε εκατοστιαία αναλογία τιμές της οστικής πυκνότητας του πύρου (οι αριθμοί στις παρενθέσεις υποδηλώνουν τη μέγιστη και ελάχιστη τιμή). Προκειμένου για την άθικτη κνήμη, οι τιμές παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση (% coefficient of variation, CV).

σημαντικά υψηλότερες ( $p = 0,001, 0,019, 0,043, 0,051$  αντίστοιχα) προς όφελος των ζώων που έλαβαν θεραπεία με LiUS. Ωστόσο, η διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων εκφραζόμενη σε απόλυτες τιμές ήταν στατι-

στικά σημαντική μόνο όσον αφορά το φορτίο θραύσης ( $p = 0,001$ ). Οι μέσες απόλυτες και σε εκατοστιαία αναλογία τιμές για κάθε ομάδα παρατίθενται στον πίνακα 8.

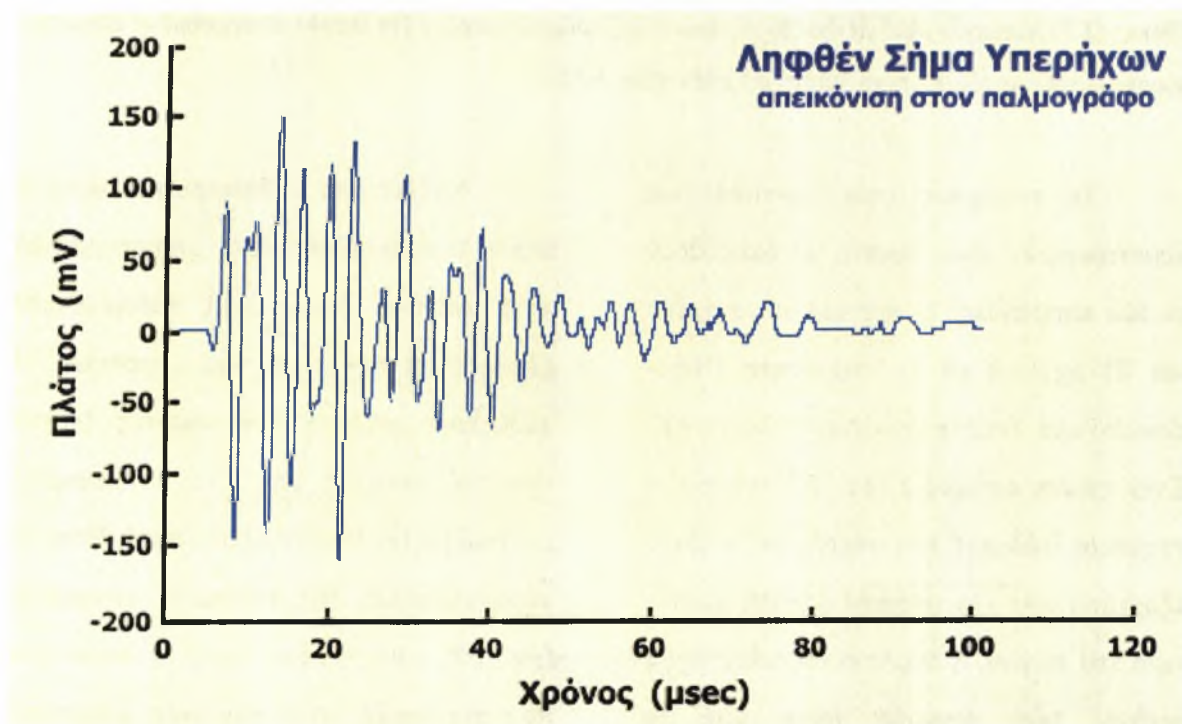
	Ομάδα Θεραπείας	Ομάδα Ελέγχου	P-value Wilcoxon	Άθικτη Κνήμη (ομάδα θεραπείας)	Άθικτη Κνήμη (ομάδα ελέγχου)
Φορτίο Θραύσης (N)	3017 (1657 – 4054)	1684 (546 – 3056)	0.001	3175.1 ± 566.5 (18.3% CV)	2977.7 ± 581.0 (19.0% CV)
Λόγος Φορτίου Θραύσης (osteotomized / intact)	1.01 (0.45 – 1.79)	0.57 (0.21 – 0.97)	0.001	-	-
Ακαμψία (N/mm)	833 (600 – 2000)	700 (188 – 1700)	0.092	1691.3 ± 345.1 (20.4% CV)	1862.8 ± 631.7 (33.9% CV)
Λόγος Ακαμψίας (osteotomized / intact)	0.63 (0.30 – 1.00)	0.33 (0.06 – 0.86)	0.019	-	-
Young's Modulus (GPa)	2.52 (0.29 – 12.24)	1.22 (0.09 – 9.16)	0.136	13.29 ± 2.8 (21.0% CV)	14.10 ± 3.9 (25.6% CV)
Λόγος Young' Modulus (callus / cortical bone)	0.17 (0.03 – 1.00)	0.09 (0.01 – 0.62)	0.043	-	-
Μέγιστη Αντοχή (MPa)	25.0 (4.90 – 103)	14.6 (1.46 – 81.7)	0.124	110.1 ± 22.3 (20.3% CV)	124.3 ± 32.9 (26.5% CV)
Λόγος Μέγιστης Αντοχής (callus / cortical bone)	0.22 (0.05 – 1.00)	0.13 (0.01 – 0.66)	0.051	-	-

Πιν. 8. Μέσες απόλυτες και σε εκατοστιαία αναλογία τιμές του φορτίου θραύσης, της ακαμψίας, του συντελεστή ελαστικότητας (Young's modulus) και της μέγιστης αντοχής (οι αριθμοί στις παρενθέσεις υποδηλώνουν τη μέγιστη και ελάχιστη τιμή). Προκειμένου για την άθικτη κνήμη, οι τιμές παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση (% coefficient of variation, CV).

### Παρακολούθηση της πύρωσης με χρήση των υπερήχων

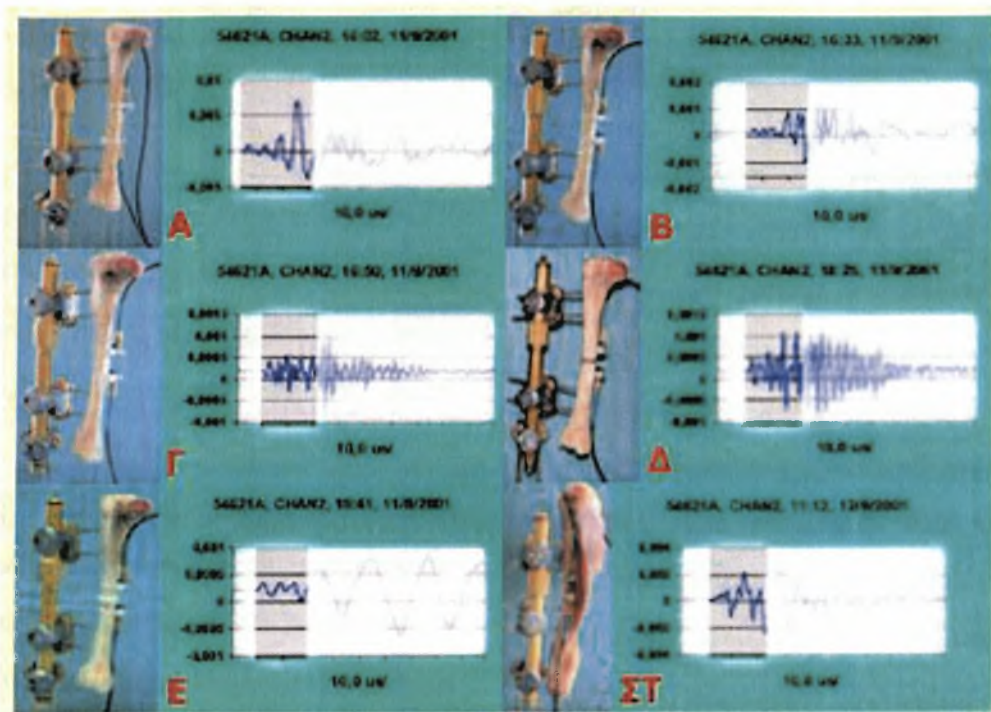
Όπως αναφέρθηκε προηγούμενα, κατά τη διάρκεια της πρώτης φάσης του πειραματισμού μελετήθηκε ο τρόπος διάδοσης των υπερήχων σε πτωματικό μοντέλο κατάγματος με προσομοίωση του πύρου κατόπιν παρεμβολής διαφόρων υλικών στο διακαταγματικό κενό. Παράλληλα, δημιουργήθηκε μια βάση δεδομένων από ανακτηθέντα σήματα προκειμένου να καθοριστούν οι επιμέρους παράμετροι του σήματος, οι οποίες μεταβάλλονται κατά την εξέλιξη της πύρωσης και συνεπώς είναι σε θέση να μας δώσουν πληροφορίες σχετικά με αυτή.

Κατόπιν διαδοχικής εφαρμογής των LiUS σε διαφορετικού τύπου πτωματικά μοντέλα κατάγματος (με ή χωρίς τα μαλακά μόρια, μεταβολή της απόστασης μεταξύ των μεταλλακτών), συνελλέγησαν 500 κυματομορφές προς περαιτέρω ανάλυση και ελήφθησαν μετρήσεις της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων μέσα από τα υλικά προσομοίωσης του πύρου. Στην εικόνα 59 φαίνεται μια τυπική κυματομορφή ενός ανακτηθέντος σήματος, ενώ η εικόνα 60 παρουσιάζει συγκεκριμένες κυματομορφές που προέκυψαν από διαφορετικά υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την εξομοίωση των επιμέρους σταδίων της πύρωσης.



Εικ. 59. Τυπική κυματομορφή ανακτηθέντος σήματος υπερήχων.

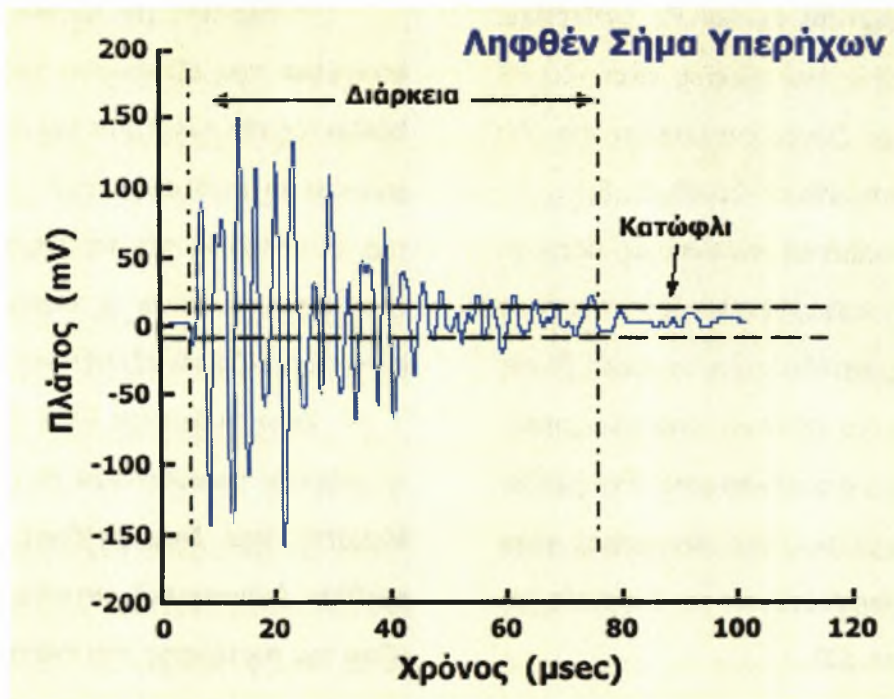




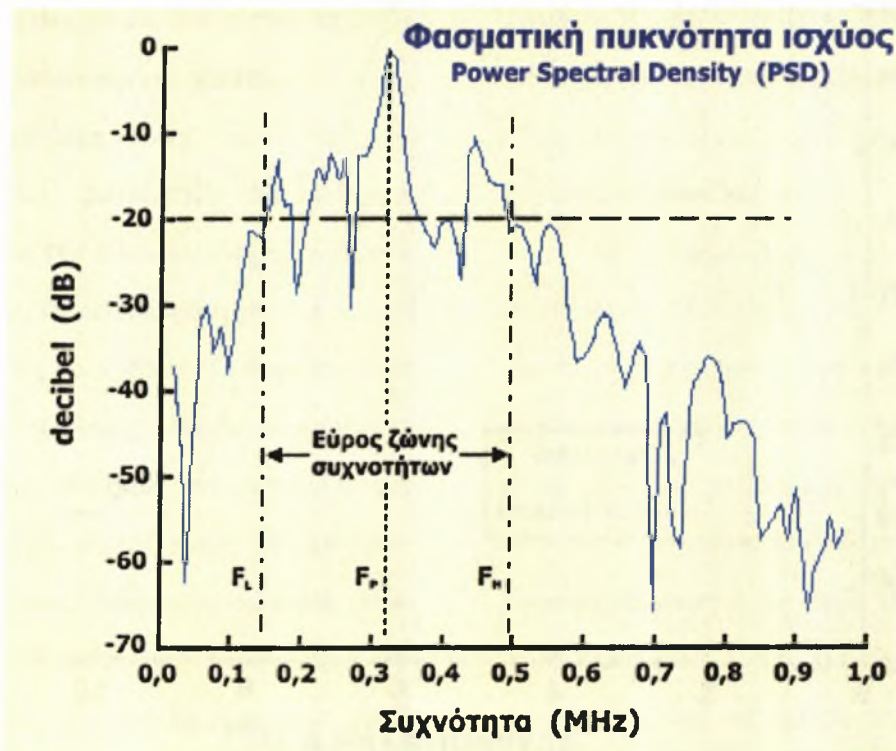
Εικ. 60. Κυματομορφές που αντιστοιχούν σε ανακτηθέντα σήματα υπερήχων κατά τον πειραματισμό προσομοίωσης των επιμέρους σταδίων της πύρωσης σε πτωματικό μοντέλο κατάγματος. (Α) άθικτο οστό (Β) κατεαγόν οστό (Γ) παρεμβολή τένοντα στο διακαταγματικό κενό (Δ) παρεμβολή μυός (Ε) παρεμβολή λίπους (ΣΤ) κατεαγόν οστό με διατήρηση των περίξ μαλακών μορίων (το έντονα επισημασμένο τμήμα της κυματομορφής υποδηλώνει το πρώτο αφιχθέν σήμα, FAS).

Τα επιμέρους χαρακτηριστικά των κυματομορφών είναι δυνατό να διαιρεθούν σε δύο κατηγορίες: 1) σχετικά με το χρόνο και 2) σχετικά με τη συχνότητα (time-domain and frequency-domain features). Στην πρώτη κατηγορία (εικ. 61) ανήκουν η ταχύτητα διάδοσης των υπερήχων, η οποία εξαρτάται από την ακαμψία και την πυκνότητα του πύρου, η διάρκεια του σήματος, ο αριθμός των κορυφών πάνω από το κατώφλι εξασθένησης και ο αριθμός των μηδενοδιελεύσεων (zero-crossings).

Καθένα από τα διαφορετικά υλικά τα οποία τοποθετήθηκαν στο διακαταγματικό κενό επέφερε διαφορετική παραμόρφωση (distortion) στο κύμα των υπερήχων. Η φασματική ανάλυση του σήματος (signal spectral analysis) μας δίνει πληροφορίες σχετικά με την παραμόρφωση αυτή. Έτσι, τα χαρακτηριστικά της δεύτερης κατηγορίας (εικ. 62) είναι η μέση ισχύς, η συχνότητα που αντιστοιχεί στην κορυφαία φασματική πυκνότητα ισχύος ( $F_p$ , frequency of peak power spectrum density) η ελάχιστη και



Εικ. 61. Χαρακτηριστικά της κυματομορφής του ανακτηθέντος σήματος των υπερήχων που σχετίζονται με το χρόνο (time-domain features).



Εικ. 62. Χαρακτηριστικά της κυματομορφής του ανακτηθέντος σήματος των υπερήχων που σχετίζονται με τη συχνότητα (frequency-domain features).  $F_p$  είναι η συχνότητα που αντιστοιχεί στην κορυφαία φασματική πυκνότητα ισχύος.  $F_L$  και  $F_H$  είναι η ελάχιστη και η μέγιστη συχνότητα αντίστοιχα για πλάτος κύματος -20 dB.

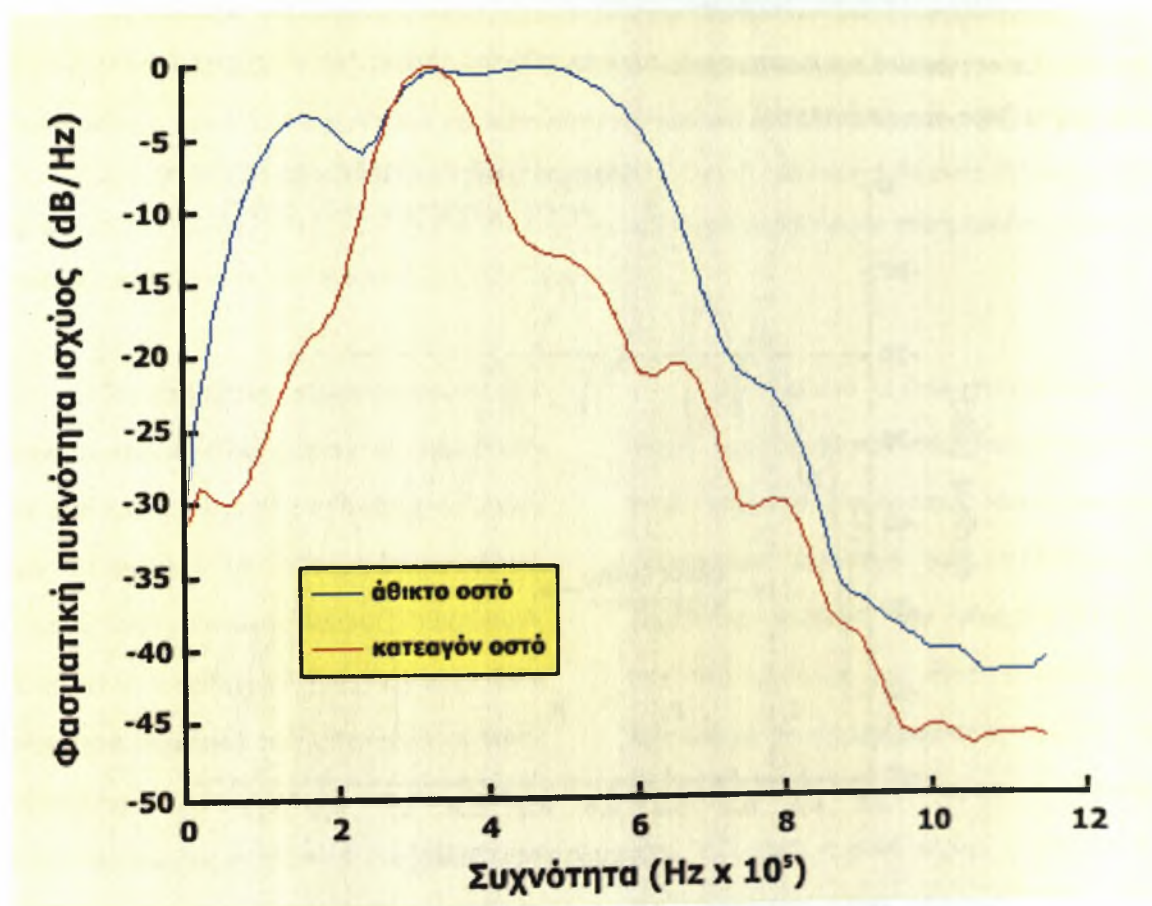


μέγιστη συχνότητα  $F_L$  και  $F_H$  αντίστοιχα, όταν το πλάτος του κύματος είναι -20 dB και το εύρος ζώνης συχνοτήτων στο ίδιο πλάτος (bandwidth at -20 dB,  $F_H - F_L$ ).

Η φασματική ανάλυση με βάση τα παραπάνω αναφερθέντα χαρακτηριστικά του σήματος κατέδειξε ότι το εύρος ζώνης συχνοτήτων στο κατεαγόν οστό είναι μικρότερο από αυτό στο άθικτο οστό. Επιπρόσθετα, συγκεκριμένες τιμές συχνότητας είναι δυνατό να ταυτοποιήσουν την παρουσία κατάγματος (εικ. 63).

Η διεργασία της πύρωσης είναι ένα φαινόμενο που εξελίσσεται χρονικά μεταβάλλοντας την πυκνότητα του ιστού που γεφυρώνει το κενό στην εστία του κατάγματος. Η μεταβολή της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων είναι η παράμετρος που αντικατοπτρίζει την εξέλιξη της πύρωσης.

Κατά τη δεύτερη φάση της μελέτης, οι υπέρηχοι εφαρμόστηκαν σε μοντέλο κατάγματος που δημιουργήθηκε σε ζώντα πρόβατα (χειρουργική οστεοτομία κνήμης) μέσω του συστήματος που αναπτύχθηκε και



Εικ. 63. Φασματική ανάλυση σήματος στην οποία φαίνεται η διαφορά του εύρους ζώνης συχνοτήτων μεταξύ του κατεαγόντος και του άθικτου οστού (μικρότερο εύρος ζώνης για το κατεαγόν οστό).



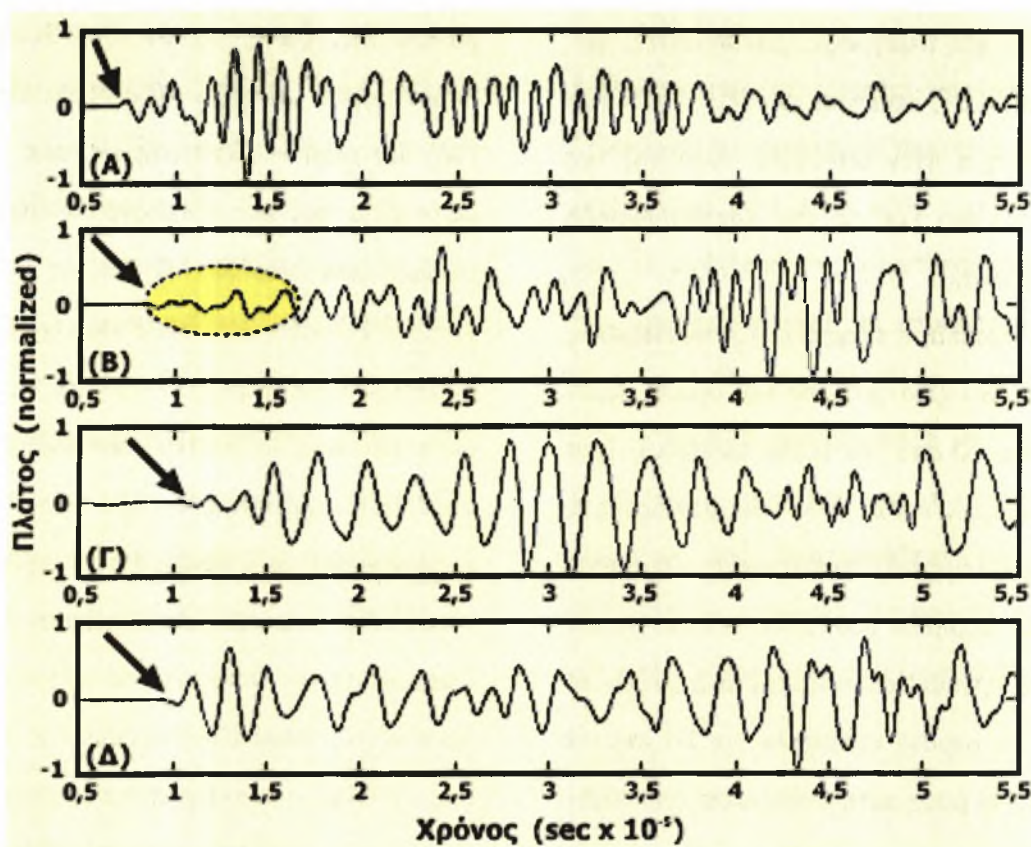
που έχει ήδη περιγραφεί (μεταλλάκτες, φορητή συσκευή, κεντρική μονάδα). Το εν λόγω σύστημα ήταν υπεύθυνο τόσο για την ευόδωση, όσο και για την παρακολούθηση της πώρωσης.

Αρχικά, η εφαρμογή του συστήματος έγινε σε 30 ζώα (20 από την ομάδα θεραπείας και 10 από την ομάδα ελέγχου). Τρία ζώα χάθηκαν και σε άλλα τρία δεν κατέστη δυνατή η λήψη σημάτων εξαιτίας καταστροφής των φορητών συσκευών με αποτέλεσμα να δημιουργηθεί ολοκληρωμένη βάση δεδομένων με σήματα υπερήχων για 24 από τα 30 ζώα. Η βάση αυτή αποτελείτο από περίπου 400 κυματομορφές που αντιστοιχούσαν σε ισάριθμα ανακτηθέντα σήματα.

Η επίδοση όλων των επιμέρους στοιχείων του συστήματος αξιολογήθηκε αναφορικά με την ενοποίηση-αλληλεπίδραση μεταξύ τους, τη λειτουργικότητα και τη φιλικότητα προς το χρήστη. Το δομοστοιχείο παραγωγής και λήψης υπερήχων (Sensing Module, SM), στη φάση που λειτουργεί ως δέκτης, παρέχει σήματα χωρίς παραμόρφωση και παράλληλα προσφέρει ευέλικτες ρυθμίσεις για την απόκτηση των δεδομένων (διέγερση παλμού, επίπεδο ενίσχυσης, προγραμματισμός μετρήσεων). Το μέγεθος της συσκευής καθιστά τη χρήση της εύκολη, ενώ το βάρος της δεν επηρέασε τη σταθε-

ρότητα της εξωτερικής οστεοσύνθεσης. Το δομοστοιχείο ελέγχου (Control Module, CM) δεν απαιτεί ιδιαίτερες γνώσεις για τη λειτουργία του και η αυτονομία της μπαταρίας ήταν περίπου 8 ημέρες (τυπική χρήση: 20 min/day LiUS και αποστολή δεδομένων μια φορά την ημέρα). Η ασύρματη επικοινωνία με την κεντρική μονάδα απεδείχθη ικανοποιητική με μέσο χρόνο αναφόρτωσης δεδομένων (mean uploading time) 70 sec κατόπιν χρήσης διατοδιαμορφωτή με πρωτόκολλο GSM (GSM modem). Το περιβάλλον χρήσης της κεντρικής μονάδας χαρακτηρίστηκε λειτουργικό, ιδιαίτερα λόγω της εύκολης πρόσβασης και διαχείρισης του συστήματος κατά τρόπο όμοιο με αυτόν της πρόσβασης στο διαδίκτυο (web-based access).

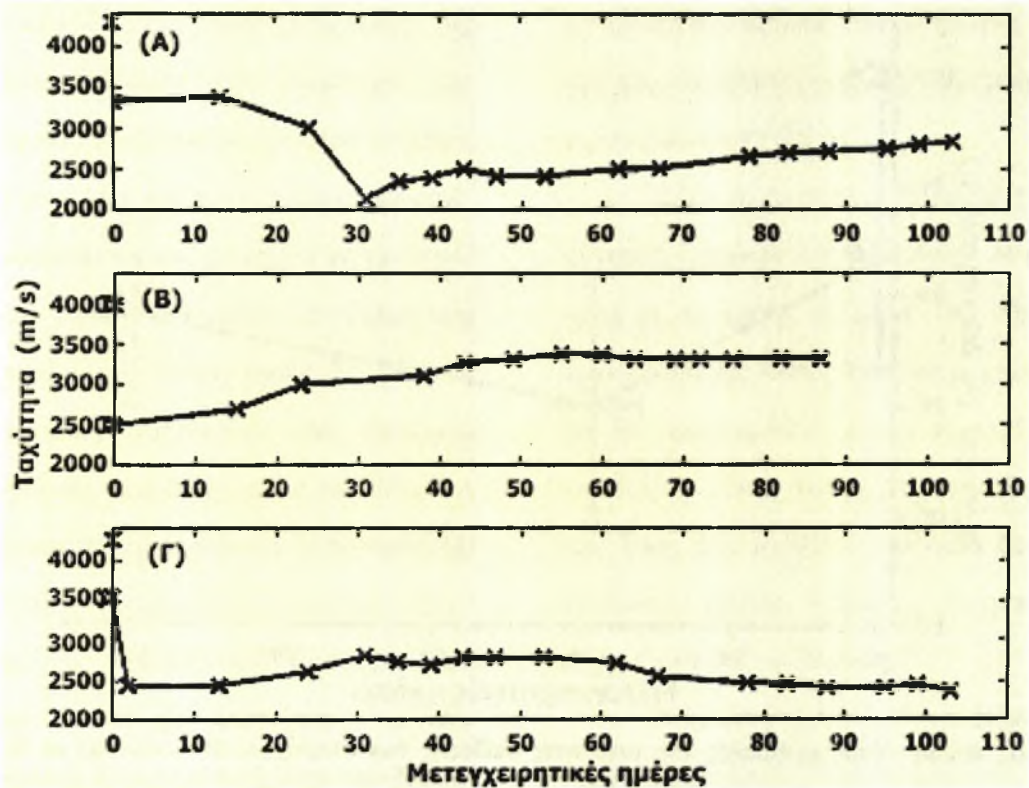
Οι κυματομορφές ενός ζώου που αντιστοιχούν σε σήματα υπερήχων: α) από άθικτο οστό β) αμέσως μετά την οστεοτομία γ) την 7<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα και δ) τη 14<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα παρουσιάζονται στην εικόνα 64. Η ταχύτητα διάδοσης των υπερήχων καθορίστηκε σε κάθε κυματομορφή με τον υπολογισμό του χρόνου μετάβασης του σήματος που καταφτάνει πρώτο (first arriving signal, FAS) και διερευνήθηκαν οι μεταβολές της κατά τη διάρκεια εξέλιξης της πώρωσης.



Εικ. 64. Κυματομορφές που αντιστοιχούν σε ανακτηθέντα σήματα υπερήχων ενός ζώου: (Α) από άθικτο οστό πριν την οστεοτομία (Β) αμέσως μετά την οστεοτομία (Γ) 7<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα και (Δ) 14<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα. Τα βέλη δείχνουν το τμήμα της κυματομορφής που αντιστοιχεί στο σήμα που καταφτάνει πρώτο (*first arriving signal, FAS*). Ο κύκλος που επισημαίνεται με διαφορετικό χρώμα απεικονίζει ένα κύμα με μικρό πλάτος, μορφή η οποία δε συναντάται καθώς η πύρωση εξελίσσεται.

Παρατηρήθηκαν τρεις χαρακτηριστικοί τύποι μεταβολής της ταχύτητας σε συνάρτηση με το χρόνο και καθώς η πύρωση εξελίσσεται (εικ. 65). Ο πρώτος τύπος (εικ. 65Α) παρατηρήθηκε σε 19 ζώα, ο δεύτερος (εικ. 65Β) σε 3 ζώα και ο τρίτος (εικ. 65Γ) σε 2 ζώα. Στον πρώτο τύπο εμφανίζεται μια αρχική μείωση της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων αμέσως μετά από την εκτέλεση της οστεοτομίας. Η μείωση αυτή αποδίδεται

στη διακοπή της συνέχειας του οστού με ταυτόχρονη παρουσία βιολογικών υγρών στο διακαταγματικό κενό. Η ταχύτητα διάδοσης του κύματος είναι μικρότερη στα υγρά αυτά (1450 m/s). Κατά μέσον όρο, σε όλα τα ζώα που παρατηρήθηκε αυτός ο τύπος, η ταχύτητα αμέσως μετά από την οστεοτομία μειώθηκε κατά 715,6 ( $\pm 438$ ) m/s σε σχέση με το άθικτο οστό. Η μείωση ήταν συνεχής μέχρι ένα "κρίσιμο σημείο", πέραν του οποί-



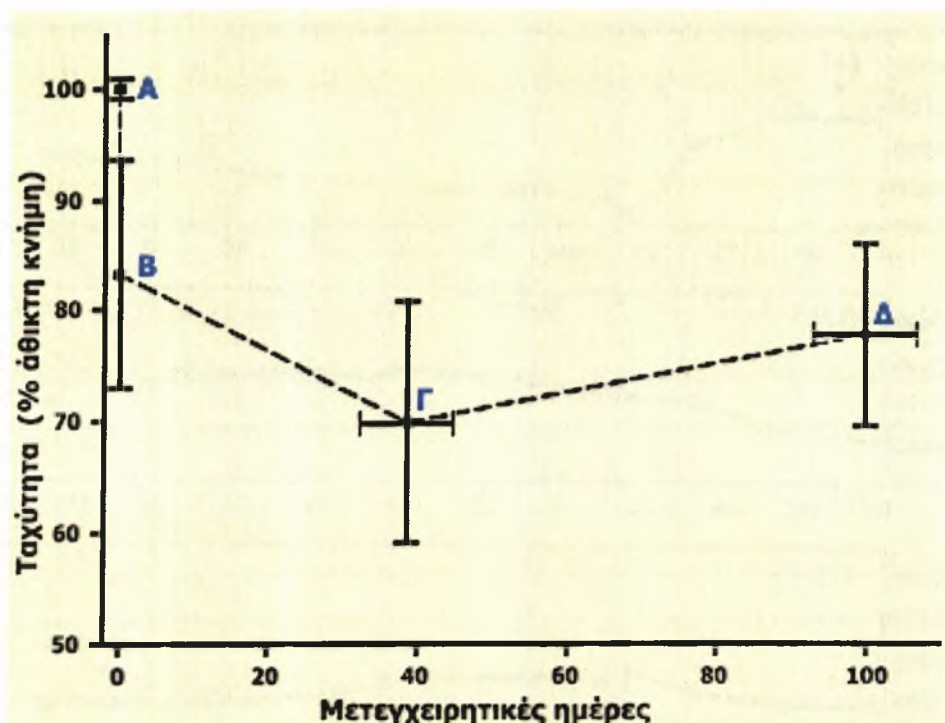
Εικ. 65. Χαρακτηριστικοί τύποι μεταβολής της ταχύτητας από τρία ζώα, οι οποίοι αντιστοιχούν: (Α)σε δευτερογενή πώρωση (Β)σε πρωτογενή πώρωση και (Γ)σε καθυστερημένη πώρωση.

ου η ταχύτητα παρουσίασε συνεχή αύξηση μέχρι τη θυσία του ζώου. Κατά μέσον όρο, το κρίσιμο αυτό σημείο έλαβε χώρα χρονικά στις 38,5 ( $\pm 6,4$ ) μετεγχειρητικές ημέρες με ταυτόχρονη μείωση της ταχύτητας κατά 730,3 ( $\pm 389,5$ ) m/s σε σχέση με αυτή αμέσως μετά από την οστεοτομία. Τα χαρακτηριστικά του πρώτου τύπου και οι μέσες τιμές της ταχύτητας για τα ζώα που παρουσίασαν αυτό τον τύπο μεταβολής φαίνονται στην εικόνα 66.

Ο απεικονιστικός έλεγχος κατέδειξε ότι τα ζώα της παραπάνω ομάδας εμφάνισαν δευτερογενή πώρωση, η οποία είναι

περισσότερο συμβατή με την εξωτερική οστεοσύνθεση. Η μείωση της ταχύτητας κατά τη διάρκεια των πρώτων μετεγχειρητικών εβδομάδων (το τμήμα μεταξύ των σημείων Β και Γ στην εικόνα 65) είναι δυνατό να αποδωθεί κατά ένα μεγάλο μέρος στη φλεγμονώδη αντίδραση και στην οστεοκλαστική δραστηριότητα που αναπτύσσονται τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο στην εστία του κατάγματος. Ιδιαίτερα η τελευταία, ευθύνεται για την οστική απορρόφηση και την περεταίρω διεύρυνση του διακαταγματικού κενού. Επιπρόσθετα, η μείωση αυτή μπορεί να οφείλεται σε ένα διαφορετικό τρόπο διά-





Εικ. 66. Μέσος τύπος μεταβολής της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων σε συνάρτηση με το χρόνο εξέλιξης της πύρωσης για τα 19 ζώα τα οποία εμφάνισαν δευτερογενή πύρωση. Το σημείο A αντιστοιχεί στην ταχύτητα στο άθικτο οστό, το B στην ταχύτητα αμέσως μετά από την οστεοτομία, το Γ στο "κρίσιμο σημείο" πέραν του οποίου η ταχύτητα αρχίζει και αυξάνεται και το Δ στην ταχύτητα ακριβώς πριν από τη θυσία των ζώων. Οι τιμές στον Y-άξονα παριστούν τη μέση εκατοστιαία αναλογία της ταχύτητας στο άθικτο οστό  $\pm$  μια σταθερή απόκλιση. Η γραμμή σφάλματος (error bar) κατά το X-άξονα στο σημείο Γ παριστά το μέσο αριθμό ημερών εμφάνισης του κρίσιμου σημείου με τη σταθερή του απόκλιση, ενώ η ίδια γραμμή στο σημείο Δ παριστά το μέσο αριθμό και τη σταθερή απόκλιση που αντιστοιχεί στην τελευταία μετεγχειρητική ημέρα.

δοσης του κύματος με διαφορετική ταχύτητα. Όπως φαίνεται στην εικόνα 6B, η κυματομορφή του σήματος που καταφτάνει πρώτο (FAS) από την οστεοτομηθείσα κνήμη έχει μικρό πλάτος και αντιστοιχεί σε διαφορετικό τρόπο κυματικής μετάδοσης, ο οποίος δεν παρατηρείται στα επόμενα σήματα. Ο μέσος χρόνος για την εξασθένιση αυτού του κύματος ήταν  $28,1 \pm 13,3$  ημέρες, ίδιος περίπου με το χρόνο κατά τον οποίο παρα-

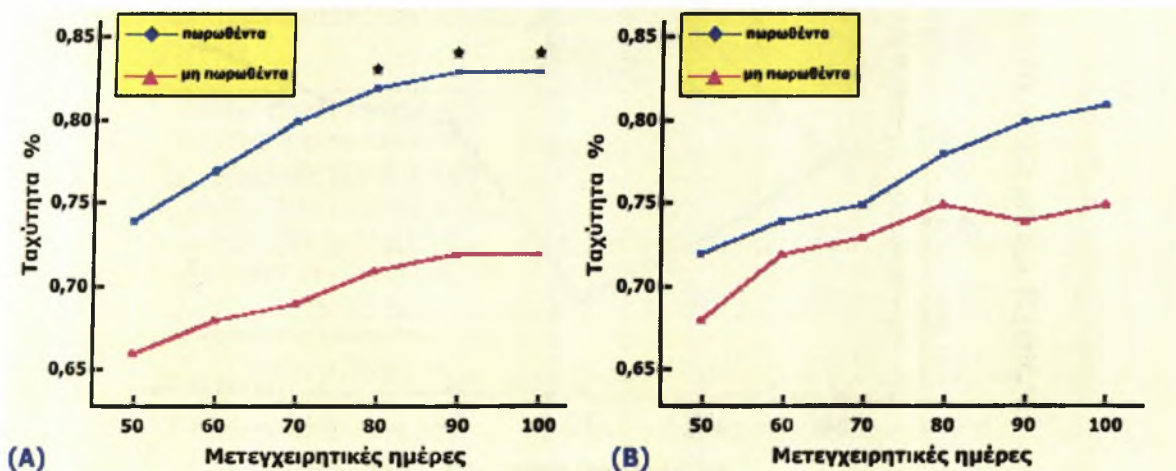
τηρήθηκε το "κρίσιμο σημείο". Τελικά, καθώς η πύρωση εξελίσσεται, η επιμετάλλωση του πύρου και οι μηχανικές αλλαγές που αυτή επιφέρει έχουν σαν αποτέλεσμα τη συνεχή σταδιακή αύξηση της ταχύτητας (το τμήμα μεταξύ των σημείων B και Γ στην εικόνα 65). Ωστόσο, η μετάβαση της ταχύτητας από το σημείο B στο σημείο Γ και από το σημείο Γ στο σημείο Δ ήταν διαφορετική για κάθε ζώο ξεχωριστά.

Στο δεύτερο τύπο μεταβολής της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων (εικ. 65B), η τελευταία παρουσίασε μια σταθερή αύξηση μετά από την οστεοτομία ακολουθώντας διαφορετική οδό σε σχέση με τον προηγούμενο τύπο. Στην ομάδα των ζώων που παρατηρήθηκε ο τύπος αυτός (3 ζώα) οι ακτινογραφίες κατέδειξαν την εμφάνιση πρωτογενούς πύρωσης, κατά την οποία η οστεοκλαστική δραστηριότητα ακολουθείται άμεσα από νεοσχηματισμό οστού λόγω αύξησης της δράσης των οστεοβλαστών (cutting cones) με αποτέλεσμα να μην παρατηρείται η αρχική διεύρυνση του διακαταγματικού κενού. Η εμφάνιση πρωτογενούς πύρωσης απαιτεί ανατομική ανάταξη και απόλυτη σταθερότητα και ως εκ τούτου, στην περίπτωση των προαναφερθέντων τρι-

ών ζώων αποδόθηκε στην αυξημένη συμπίεση που ασκήθηκε μέσω της συσκευής εξωτερικής οστεοσύνθεσης.

Στον τρίτο τύπο μεταβολής της ταχύτητας, η πορεία της τελευταίας σε συνάρτηση με το χρόνο εξέλιξης της πύρωσης ήταν ασυνήθης. Εκτός από μια αρχική πτώση, δεν παρατηρήθηκε καμιά περεταίρω μεταβολή. Ο τύπος αυτός παρατηρήθηκε σε δύο ζώα, στα οποία το κάταγμα δεν είχε εμφανίσει σημεία πύρωσης ακτινολογικά μέχρι τη στιγμή της θυσίας.

Η σχέση μεταξύ των μεταβολών της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων και της εξέλιξης της πύρωσης κατά τη διάρκεια της μετεγχειρητικής περιόδου διερευνήθηκε με βάση τις αξιολογήσεις των δύο εξεταστών Α και Β (εικ. 67). Για το σκοπό

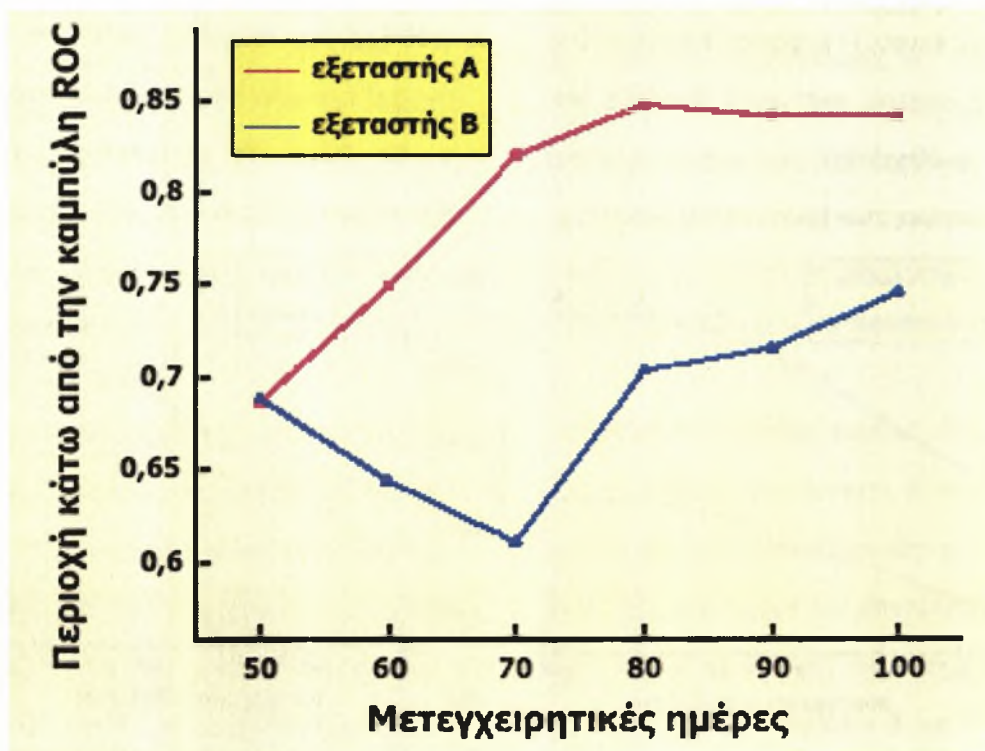


Εικ. 67. Διάγραμμα που παριστά τη μεταβολή στη διάδοση της ταχύτητας των υπερήχων (εκφραζόμενη ως μέση εκατοστιαία αναλογία της τιμής στο άθικτο οστό) σε συνάρτηση με το χρόνο από την 50<sup>η</sup> έως την 100<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα. Τα οστά των ζώων χαρακτηρίστηκαν ως "πυρωθέντα" και "μη πυρωθέντα" με βάση την εμφάνιση ακτινολογικής πύρωσης σύμφωνα με τα κριτήρια του Heckman. (Α) Μεταβολή της ταχύτητας κατά την αξιολόγηση του εξεταστή Α και (Β) Κατά την αξιολόγηση του εξεταστή Β.

αυτό, τα ζώα χωρίστηκαν σε δύο ομάδες. Η πρώτη ομάδα περιελάμβανε τα ζώα που εμφάνισαν ακτινολογική πύρωση σύμφωνα με τα κριτήρια του Heckman και η δεύτερη αυτά που δεν εμφάνισαν ακτινολογική πύρωση σύμφωνα με τα ίδια κριτήρια. Τα οστά των ζώων της πρώτης ομάδας χαρακτηρίστηκαν ως "πρωθέντα", ενώ αυτά της δεύτερης ως "μη πρωθέντα". Όπως φαίνεται και στην εικόνα 67, η ταχύτητα ήταν σταθερά μεγαλύτερη διαμέσου των οστών που τελικά χαρακτηρίστηκαν ως πρωθέντα. Ωστόσο, στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων παρατηρήθηκαν μόνο στην αξι-

ολόγηση του εξεταστή Α και μετά την 80<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα.

Προκειμένου να αξιολογηθεί η διαγνωστική ικανότητα της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων ως προς τη διάκριση μεταξύ πρωθέντων και μη πρωθέντων οστών σε διάφορες χρονικές στιγμές της μετεγχειρητικής περιόδου, χρησιμοποιήθηκε η περιοχή  $A_z$  κάτω από την καμπύλη λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη (Receiver Operating Characteristic curve, ROC, εικ. 68). Η καμπύλη ROC σε κάθε χρονική στιγμή προσδιορίζεται από τα σημεία τομής των συντεταγμένων του κλάσματος που εκ-



Εικ. 68. Περιοχή κάτω από την καμπύλη λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη (ROC) σε διαφορετικές χρονικές στιγμές της μετεγχειρητικής περιόδου. Το κριτήριο για τη διάκριση μεταξύ πρωθέντων και μη πρωθέντων οστών, σύμφωνα με τις αξιολογήσεις των εξεταστών Α και Β, ήταν η εκατοστιαία αναλογία της ταχύτητας διάδοσης των υπερήχων.

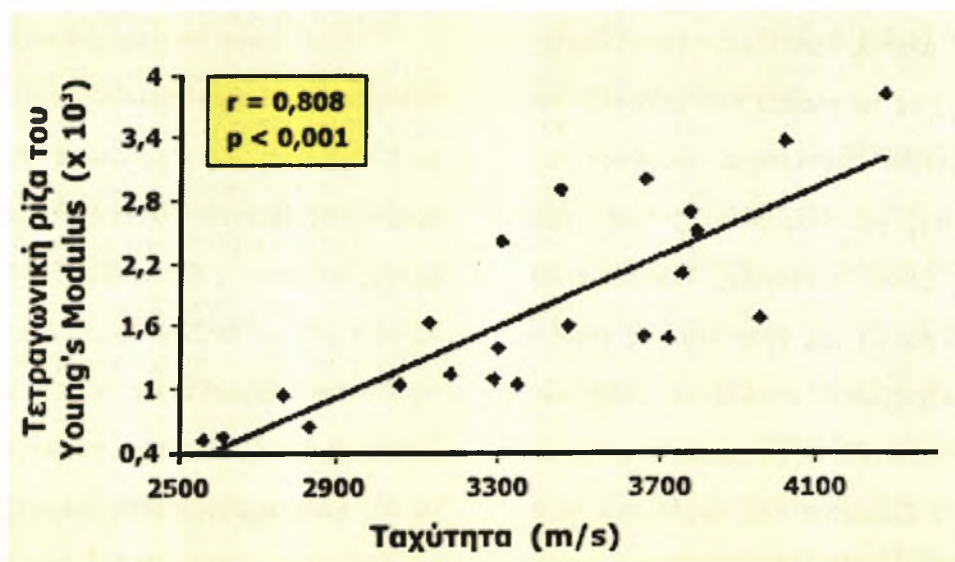


φράζει το αληθές αποτέλεσμα (ευαισθησία, sensitivity) με το κλάσμα που εκφράζει το ψευδώς θετικό αποτέλεσμα (1-ειδικότητα, 1-specificity) για διαφορετικές τιμές της ταχύτητας (τιμές αναφοράς). Προκειμένου να γίνει σύγκριση της διαγνωστικής επίδοσης των υπερήχων με αυτή άλλων μεθόδων, διενεργήθηκε ανάλυση με χρήση καμπυλών ROC για τα δεδομένα που προέκυψαν από την οστική πυκνομετρία και την εμβιομηχανική δοκιμασία. Στην ανάλυση αυτή, χρησιμοποιήθηκαν μόνο τα ζώα, στα οποία έγινε ευόδωση-παρακολούθηση της πώρωσης με το σύστημα των υπερήχων. Ο πίνακας 9 περιέχει τις περιοχές  $A_z$  που υπολογίστηκαν για κάθε μέθοδο ξεχωριστά (η περιοχή  $A_z$  που αντιστοιχεί στην ταχύτητα, είναι αυτή του διαγράμματος στην εικόνα 68).

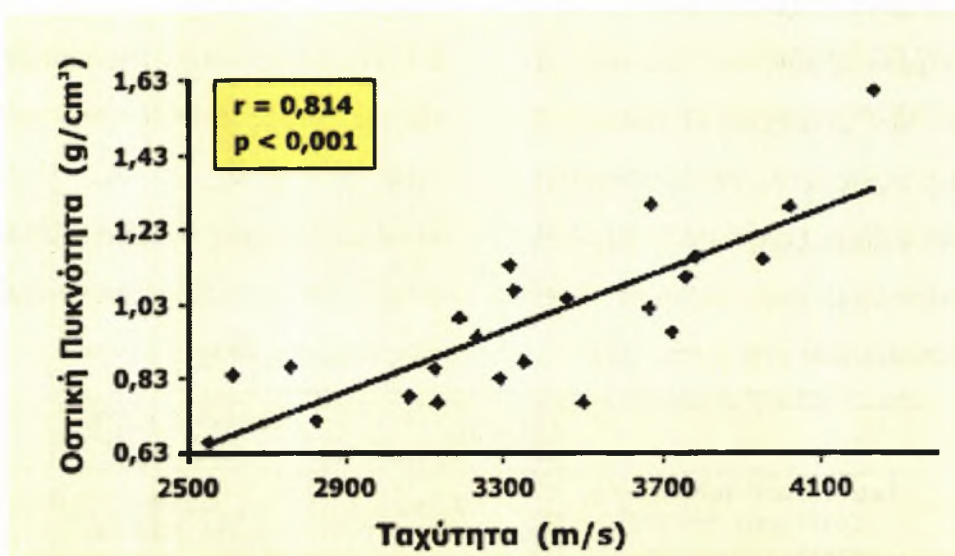
Ο έλεγχος της διαγνωστικής αξίας των υπερήχων ολοκληρώθηκε με τη διερεύνηση της ύπαρξης σημαντικού συντελεστή συσχέτισης (correlation coefficient) μεταξύ της ταχύτητας που μετρήθηκε την τελευταία μετεγχειρητική ημέρα και των ιδιοτήτων του πωρωθέντος οστού ως υλικό (εμβιομηχανικές ιδιότητες, οστική πυκνότητα του νεοσχηματισθέντος πώρου). Ο συντελεστής συσχέτισης μεταξύ ταχύτητας και τετραγωνικής ρίζας του Young's Modulus ήταν 0,808 ( $p < 0,001$ , εικ. 69). Αντίστοιχα, ο συντελεστής συσχέτισης μεταξύ ταχύτητας και μέσης οστικής πυκνότητας ήταν 0,814 ( $p < 0,001$ , εικ. 70). Ο πίνακας 10 περιέχει τις τιμές του συντελεστή συσχέτισης μεταξύ υπερήχων και ακαμψίας, μέγιστης αντοχής, Young's Modulus.

	Περιοχή κάτω από την καμπύλη ROC	
	Εξεταστής Α	Εξεταστής Β
Εκατοστιαίο ποσοστό της Ταχύτητας την 100 <sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα	0.842 (0.570 – 0.975)	0.746 (0.472 – 0.924)
Εκατοστιαίο ποσοστό της Οστικής Πυκνότητας	0.689 (0.491 – 0.860)	0.759 (0.531 – 0.912)
Εκατοστιαίο ποσοστό της Ακαμψίας	0.893 (0.674 – 0.983)	0.912 (0.698 – 0.988)
Εκατοστιαίο ποσοστό του Young's Modulus	0.880 (0.657 – 0.978)	0.890 (0.670 – 0.982)
Εκατοστιαίο ποσοστό της Μέγιστης Αντοχής	0.880 (0.657 – 0.978)	0.879 (0.656 – 0.978)

Πίν. 9. Σύγκριση της διαγνωστικής επίδοσης των υπερήχων, της οστικής πυκνομετρίας και της εμβιομηχανικής δοκιμασίας μετά από ανάλυση των καμπυλών ROC. Οι αριθμοί στις παρενθέσεις υποδηλώνουν 95% διάστημα εμπιστοσύνης (Confidence Interval). Η 100<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα σηματοδοτεί χρονικά το τέλος της μελέτης.



Εικ. 69. Διάγραμμα που παριστά τη σχέση της ταχύτητας που μετρήθηκε την τελευταία μετεγχειρητική ημέρα και της τετραγωνικής ρίζας του Young's Modulus (correlation coefficient,  $r$ ).



Εικ. 70. Διάγραμμα που παριστά τη σχέση της ταχύτητας που μετρήθηκε την τελευταία μετεγχειρητική ημέρα και της οπτικής πυκνότητας του πύρου (correlation coefficient,  $r$ ).

	Ταχύτητα	
	correlation coefficient ( $r$ )	p-value
<b>Ακαμψία</b>	0,699	0,004
<b>Μέγιστη Αντοχή</b>	0,754	0,001
<b>Young's Modulus</b>	0,740	0,002

Πιν. 10. Συντελεστής συσχέτισης (correlation coefficient,  $r$ ) μεταξύ ταχύτητας υπερήχων την τελευταία μετεγχειρητική ημέρα και ακαμψίας, μέγιστης αντοχής, Young's Modulus.

## Συζήτηση

Τα ευρήματα διαφόρων κλινικών και πειραματικών μελετών<sup>155,156,159,162,172,173</sup> καταδεικνύουν την ικανότητα των υπερήχων ως προς την ευόδωση της πώρωσης των καταγμάτων, καθώς επίσης και τη θετική δράση τους στη θεραπεία των ψευδαρθρώσεων.

Η εφαρμογή των υπερήχων στις παραπάνω περιπτώσεις ήταν διαδερμική, ενώ μόνο σε μια πρόσφατη πειραματική μελέτη<sup>162</sup> γίνεται για πρώτη φορά εφαρμογή των υπερήχων άμεσα πάνω στο οστό κατά τρόπο παρόμοιο με αυτόν του παρόντος πονήματος. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, η διοστική εφαρμογή των LiUS συνιστά μια αποτελεσματική εναλλακτική μέθοδο για την ευόδωση της πώρωσης σε μοντέλο οστεοτομίας κνήμης σε πρόβατα. Ο σκοπός της παρούσας πειραματικής μελέτης πάνω στο ίδιο μοντέλο με χρήση εξωτερικής οστεοσύνθεσης ήταν 1)η διερεύνηση της δράσης των LiUS μετά από εφαρμογή τους μέσω ενός ζεύγους χειρουργικά εμφυτεύσιμων μεταλλακτών στην εστία του κατάγματος απευθείας πάνω στο περίοστεο και 2)η παρακολούθηση της εξέλιξης της πώρωσης με την ανάπτυξη και χρήση μιας διάταξης αποστολής και λήψης δεδομένων. Τα αποτελέσματά μας κατέδειξαν τη δυνατότητα των LiUS ως προς τη δημιουργία πώρου με σημαντικά υψηλότερη τιμή

οστικής πυκνότητας και ταυτόχρονα μεγαλύτερη ακαμψία και αντοχή θραύσης συγκριτικά με τον πώρο που σχηματίστηκε στις κνήμες των ζώων της ομάδας θεραπείας στα οποία οι LiUS δεν εφαρμόστηκαν για την ευόδωση της πώρωσης.

Η όλη διάταξη της προηγούμενης μελέτης<sup>162</sup> είχε διαφορετική φιλοσοφία εξαιτίας του γεγονότος ότι οι μεταλλάκτες των υπερήχων ήταν τοποθετημένοι πάνω στις βελόνες της εξωτερικής οστεοσύνθεσης, οι οποίες με τη σειρά τους έρχονταν σε επαφή με το οστό. Στην παρούσα μελέτη, οι μεταλλάκτες ήταν τοποθετημένοι πάνω στην επιφάνεια του περισστέου επιτρέποντας την άμεση αγωγή του κύματος από το μεταλλάκτη προς το οστό με σκοπό τόσο την προαγωγή, όσο και την παρακολούθηση της διεργασίας της πώρωσης.

Η επιλογή του προβάτου ως πειραματόζωου έγινε με γνώμονα την ευρεία χρήση του συγκεκριμένου ζώου σε πειραματικές μελέτες που εμπλέκουν οστεοσύνθεση καταγμάτων<sup>192</sup>. Τα πρόβατα είναι σε θέση να φορτίσουν το χειρουργηθέν άκρο υπό την προϋπόθεση ότι η οστεοσύνθεση είναι επαρκής. Η χειρουργική τεχνική για την οστεοτομία της κνήμης, την εμφύτευση των μεταλλακτών και την εφαρμογή της εξωτερικής οστεοσύνθεσης είναι μια εύκολα επαναλήψιμη διαδικασία, η οποία εντάσσεται στο



βασικό επίπεδο γνώσεων του ορθοπαιδικού χειρουργού. Ο βιολογικός ρόλος του περιostίου και των πέριξ μαλακών μορίων ελήφθη σοβαρά υπόψη με ιδιαίτερη προσοχή ως προς την ελαχιστοποίηση του χειρουργικού τραύματος. Τα καλώδια των μεταλλακτών εξέρχοντο του δέρματος δια των οπών των βελονών της εξωτερικής οστεοσύνθεσης πλησίον της οστεοτομίας, χωρίς να απαιτηθεί η δημιουργία νέων σημείων εξόδου. Ο συνολικός σχεδιασμός της παρούσας μελέτης προσομοιώνει περισσότερο ένα χαμηλής ενέργειας ανοικτό κάταγμα τύπου II, παρά ένα κλειστό κάταγμα κνήμης. Το υλικό της θήκης των μεταλλακτών απεδείχθη πλήρως βιοσυμβατό χωρίς την εμφάνιση αντιδραστικών φαινομένων. Αυτό επιβεβαιώνεται και από το γεγονός ότι α) οι ακτινογραφίες δεν κατέδειξαν το σχηματισμό κυκλοτερούς ακτινοδιαυγαστικής ζώνης πέριξ των μεταλλακτών και β) δεν υπήρχαν τοπικά ευρήματα παθολογικής ιστικής αντίδρασης κατά τη συλλογή των οστικών δοκιμών.

Διάφοροι ερευνητές έχουν προτείνει τη χρήση μη ειδικών κριτηρίων, όπως η εμφάνιση πύρου στο σύνολό του ή η εξαφάνιση του διακαταγματικού κενού<sup>193,194</sup> για την αξιολόγηση και ερμηνία των μετεγχειρητικών ακτινογραφιών. Ωστόσο, εξακολουθεί να υπάρχει διαφωνία ως προς τον ακριβή ορισμό της ακτινολογικής πύρωσης των κα-

ταγμάτων. Στην παρούσα μελέτη έγινε χρήση των κριτηρίων που εισήχθησαν από το Heckman et al., τα οποία προσδιορίζουν το σχηματισμό πύρου κατά τα επιμέρους στάδια με απλό και αποτελεσματικό τρόπο<sup>172</sup>. Οι συσσωρευτικές γραφικές παραστάσεις και η ανάλυση επιβίωσης έδειξαν ότι η αναλογία των ζώων που έφτασαν τόσο σε ενδιάμεσα, όσο και σε τελικό στάδιο ακτινολογικής πύρωσης μετεγχειρητικά, ήταν σαφώς μεγαλύτερη στην ομάδα που έλαβε θεραπεία με υπερήχους. Αν και αυτό επιβεβαιώθηκε και από τους δύο εξεταστές, στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0,05$ ) βρέθηκε μόνο στην αξιολόγηση του εξεταστή Β. Το γεγονός αυτό υπογραμμίζει ότι η αξιολόγηση των ακτινογραφιών εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την υποκειμενική ερμηνία που δίνει ο εκάστοτε εξεταστής.

Προκειμένου να ξεπεραστεί η ανεπάρκεια αυτή του απεικονιστικού ακτινολογικού ελέγχου, διενεργήθηκαν μετρήσεις της οστικής πυκνότητας (BMD) των δοκιμών με χρήση τρισδιάστατης ποσοτικής υπολογιστικής τομογραφίας (3D QCT). Τα αποτελέσματα της μεθόδου αυτής κατέδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων θεραπείας και ελέγχου με την τιμή της μέσης οστικής πυκνότητας του πύρου στην πρώτη ομάδα να είναι περίπου 25% υψηλότερη από αυτή στη δεύτερη ομάδα.

Οι εμβιομηχανικές ιδιότητες των πωρωθέντων οστών αξιολογήθηκαν μετά από δοκιμασία λυγισμού και θραύσης τριών σημείων, η οποία κατέδειξε ότι υπήρχε σαφής διαφοροποίηση μεταξύ των δύο ομάδων προς όφελος της ομάδας θεραπείας. Οι τιμές του φορτίου θραύσης, της ακαμψίας, του συντελεστή ελαστικότητας και της μέγιστης αντοχής επανήλθαν στο 101%, 63%, 17% και 22% των τιμών του άθικτου οστού αντίστοιχα. Η ευρεία διακύμανση μεταξύ των εμβιομηχανικών μετρήσεων είναι δυνατό να εξηγηθεί από τις δομικές ιδιότητες που προκύπτουν από την ιδιαίτερη αρχιτεκτονική των οστών. Η δράση του φορτίου που ασκείται επί του οστού κατά την εμβιομηχανική δοκιμασία επηρεάζεται σημαντικά από εξωγενείς παράγοντες όπως η αδρή γεωμετρία του οστού, το μέγεθος και το σχήμα του πώρου<sup>195,196</sup>. Ένα σταθερό εύρημα στις κνήμες που έλαβαν θεραπεία με LiUS ήταν ο εκσεσημασμένος σχηματισμός πώρου κάτω και γύρω από τους μεταλλάκτες, γεγονός που συνηγορεί υπέρ της υψηλά ανευρεθής τιμής για το φορτίο θραύσης. Κατά τη μέτρηση της ακαμψίας (αναφέρεται επίσης ως εξωτερική ακαμψία), η επίδραση των εξωγενών ιδιοτήτων του οστού είναι λιγότερο εμφανής. Η ακαμψία έφτασε στο 63% αυτής της άθικτης κνήμης όντας συγκρίσιμη με την τιμή 53% που βρέθηκε για την οστι-

κή πυκνότητα. Από την άλλη πλευρά, ο συντελεστής ελαστικότητας (Young's Modulus, αναφέρεται επίσης ως ενδογενής ακαμψία) και η μέγιστη αντοχή αντικατοπτρίζουν τις εγγενείς ιδιότητες του οστού κατά τη διεύθυνση φόρτισης με αποτέλεσμα να εξαρτώνται κυρίως από την ιδιοκατασκευή του πώρου. Συνεπώς, τα χαμηλά ποσοστά (περίπου 20%) που ανευρέθησαν για τα μεγέθη αυτά αντανakλούν τις ιδιότητες του πώρου ως υλικό συγκριτικά με τις αντίστοιχες του φλοιώδους οστού.

Είναι γνωστό, ότι η εμβιομηχανική δοκιμασία στρέψης είναι καταλληλότερη από αυτή του λυγισμού προκειμένου για τη μελέτη των μηχανικών ιδιοτήτων των μακρών οστών. Στη βιβλιογραφία, αναφέρεται ότι το σφάλμα μετά από δοκιμασία λυγισμού των μακρών οστών κυμαίνεται μεταξύ 7,3 και 15,2%<sup>197</sup>. Λόγω έλλειψης του αντίστοιχου εξοπλισμού δεν κατέστη δυνατή η διενέργεια εμβιομηχανικής δοκιμασίας στρέψης στην παρούσα μελέτη.

Ο σκοπός της παρούσας πειραματικής μελέτης δεν ήταν η σύγκριση μεταξύ διαδερμικής και διοστικής εφαρμογής των LiUS. Επιπρόσθετα, τα συμπεράσματά μας δεν ανάγονται στα κατάγματα που επισυμβαίνουν σε ανθρώπους, για τα οποία θα χρειαστεί προφανώς μια εκτεταμένη κλινική μελέτη. Πρωτίστως, έγινε μια προσπάθεια

να διερευνηθεί το αποτέλεσμα μετά από την εφαρμογή της ενέργειας των υπερήχων άμεσα επί του οστού, πλησίον της εστίας του κατάγματος και δευτερευόντως να καταστεί δυνατή η παρακολούθηση της εξέλιξης της πώρωσης με τη χρήση των μεταλλακτών ως συστήματος πομπού-δέκτη. Και στις δύο περιπτώσεις, τα αποτελέσματά μας είναι αρκετά ενθαρρυντικά, γεγονός που μπορεί να εξηγηθεί από τη μορφή της διάταξης του συστήματός μας η οποία απαιτεί την τοποθέτηση των μεταλλακτών σε απευθείας επαφή με το οστό. Κατά τον τρόπο αυτό, διευκολύνεται η παραγωγή και διάδοση ικανού αριθμού κυμάτων τα οποία περιορίζονται εντός των ορίων του οστικού φλοιού (*guided wave modes*)<sup>198</sup>. Η διεγερμένη μορφή του κύματος οδηγείται κατά μήκος του του μακρού άξονα του οστού με αποτέλεσμα την αποδοτικότερη μεταφορά της ενέργειας των υπερήχων στη εστία του κατάγματος. Τα φαινόμενα αυτά είναι διαφορετικά από τα αντίστοιχα που παρατηρούνται κατά τη διαδερμική εφαρμογή των υπερήχων στην οποία η εκπομπή των κυμάτων στην επιφάνεια του δέρματος οδηγεί στην απορρόφηση, σκέδαση και μερική ανάκλασή τους στη διεπιφάνεια οστού μαλακών μορίων. Συγκρινόμενη με τη διαδερμική εφαρμογή των LiUS, η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε στην παρούσα μελέτη παρέχει επιπρό-

σθετα το μοναδικό πλεονέκτημα παρακολούθησης της εξέλιξης της πώρωσης σε πραγματικό χρόνο. Παρόλα αυτά, δεν είναι αναίμακτη ενώ παράλληλα απαιτεί και μια ακόμη επέμβαση σε δεύτερο χρόνο για την αφαίρεση των μεταλλακτών.

Το δεύτερο κίνητρο του παρόντος πονήματος ήταν η διερεύνηση της διαγνωστικής ικανότητας των διοστικά εφαρμοζόμενων υπερήχων. Κατεδείχθη ότι η ταχύτητα διάδοσης των υπερήχων διαμέσου της εστίας του κατάγματος συνιστά μια σημαντική παράμετρο. Καθώς η πώρωση εξελίσσεται, η ταχύτητα σταδιακά αυξάνει προς την κατεύθυνση αυτής του άθικτου οστού. Συνεπώς, οι μεταβολές στην τιμή της ταχύτητας καταγράφουν τις μεταβολές μιας άλλης δυναμικής βιολογικής διεργασίας, της πώρωσης. Η αρχική μείωση της ταχύτητας, στην περίπτωση των ζώων που εμφάνισαν δευτερογενή πώρωση, είναι συμβατή με τα ευρήματα προηγούμενων κλινικών μελετών<sup>188,189</sup>. Ο Gerlanc et al.<sup>188</sup> αναφέρει μείωση της ταχύτητας κατά 24% σε σχέση με το άθικτο οστό η οποία παρατηρήθηκε λίγες ημέρες μετά το κάταγμα. Ακολούθως, παρατηρήθηκε περεταίρω μείωση της τάξης του 7% μέχρι το τέλος του πρώτου μήνα, η οποία προκλήθηκε από τις δομικές και μεταβολικές αλλαγές του οστού. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν μια μέση πτώση 17%



μετά από την εκτέλεση της οστεοτομίας (σημείο Β, *εικ. 66*) και μια περεταίρω μείωση 13% μέχρι την 38<sup>η</sup> ημέρα (σημείο Γ, *εικ. 66*). Θεωρητικά, η ταχύτητα διαμέσου ενός οστού (4275 m/s nominal velocity) με διακαταγματικό κενό 2 mm και απόσταση μεταξύ των μεταλλακτών 25 mm μειώνεται κατά 17,1%. Επίσης, η παρουσία του "κρίσιμου σημείου", πέρα από το οποίο η ταχύτητα αρχίζει να αυξάνει, εξηγείται από τη διαφορετική μορφή του πώρου κατά τη δευτερογενή πώρωση και την αλλαγή στον τρόπο διάδοσης του κύματος που αντιστοιχεί στο σήμα που καταφτάνει πρώτο (FAS). Το κύμα αυτό είναι εξωτερικό, με μικρό πλάτος το οποίο διαδίδεται διαμέσου του νεοσχηματισθέντος πώρου. Καθώς η πώρωση εξελίσσεται, η διάδοση κατ' αυτό τον τρόπο εξασθενεί σημαντικά. Παρόλα αυτά, απαιτείται περεταίρω έρευνα προκειμένου να εξαχθούν συμπεράσματα για τη φύση αυτού του τρόπου διάδοσης.

Η ικανότητα των υπερήχων να απεικονίσουν τις μηχανικές και υλικές ιδιότητες του πώρου κατεδείχθη με τον υπολογισμό του συντελεστή συσχέτισης μεταξύ της ταχύτητας και των παραπάνω ιδιοτήτων. Παρατηρήθηκε ότι η ταχύτητα που μετράται την τελευταία μετεγχειρητική ημέρα βρίσκεται σε άμεση σχέση με την πυκνότητα και τις μηχανικές ιδιότητες του οστού.

Παράλληλα, διερευνήθηκε και η δυνατότητα της πρώιμης διάκρισης μεταξύ πωρωθέντων και μη πωρωθέντων οστών. Κατέστη φανερό ότι ήδη από την 50<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα, η ταχύτητα διάδοσης διαμέσου των οστών που τελικά πωρώθηκαν ήταν υψηλότερη από αυτή των οστών τα οποία δεν εμφάνισαν πώρωση. Η ταχύτητα διαμέσου των πωρωθέντων οστών ξεπέρασε το 80% της τιμής στο άθικτο οστό την 70<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα, σύμφωνα με την αξιολόγηση του εξεταστή Α και την 90<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα σύμφωνα με τον εξεταστή Β. Το εμπειρικό αυτό κατώφλι της τιμής της ταχύτητας έχει επίσης αναφερθεί και σε κλινικές μελέτες<sup>188,189</sup>.

Η διαγνωστική επίδοση των υπερήχων σε διαφορετικές χρονικές στιγμές εκτιμήθηκε μετά από ανάλυση των καμπυλών λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη (ROC). Η περιοχή κάτω από την καμπύλη ROC αυξήθηκε δραστικά την 80<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα, σύμφωνα και με τους δύο εξεταστές, υποδεικνύοντας ότι δεν είναι δυνατό να γίνουν ασφαλείς προβλέψεις νωρίτερα από το χρόνο αυτό. Η ικανότητα των διοστικών υπερήχων ως προς την αξιολόγηση της πώρωσης υπολείπεται αυτής των εμβιομηχανικών δοκιμασιών, ενώ ήταν συγκρίσιμη με αυτή της οστικής πυκνομετρίας. Στο σημείο αυτό όμως πρέπει να τονιστεί ότι οι εμβιο-

μηχανικές δοκιμασίες συνεπάγονται την καταστροφή του οστού και δεν προσφέρουν τη δυνατότητα παρακολούθησης της εξέλιξης της πώρωσης. Επιπρόσθετα, η μέτρηση της οστικής πυκνότητας απαιτεί την έκθεση του ασθενούς σε ιονίζουσα ακτινοβολία και λαμβάνει χώρα μόνο σε κλινικό περιβάλλον.

Τόσο η θεραπευτική όσο και η διαγνωστική προσέγγιση με τη χρήση των LiUS υποστηρίχθηκε από ένα σύστημα τηλεϊατρικής, μέρος του οποίου ήταν η φορητή συσκευή με τα δύο υποσυστήματα SM και CM την οποία ο ασθενής δύναται να φέρει πάνω του (wearable device). Αυτού του είδους ιατρικές συσκευές έχουν αναπτυχθεί σε πολλές κλινικές εφαρμογές τόσο για λειτουργία σε ενδονοσοκομειακό, όσο και σε εξωνοσοκομειακό περιβάλλον. Ωστόσο, είναι η πρώτη φορά που έγινε προσπάθεια ανάπτυξης ενός τέτοιου συστήματος στο χώρο της Ορθοπαιδικής για την αντιμετώπιση ασθενών που έχουν υποστεί κάταγμα σε κάποιο άκρο. Η φορητή συσκευή υποστηρίζει ταυτόχρονα την εφαρμογή των LiUS και την αυτόματη συλλογή και μετάδοση των ανακτηθέντων σημάτων. Πρόκειται για μια συσκευή ελαφριά σε βάρος, μικρή σε διαστάσεις και λειτουργικά εύχρηστη, δυνατότητες που της προσδίδουν ακόμη περισσότερη ευελιξία ως προς την επιτέλεση των παραπάνω αναφερθέντων διαδικασιών. Η ασύρματη

μετάδοση των δεδομένων στην κεντρική μονάδα μειώνει τον αριθμό των επισκέψεων του ασθενούς στο χειρουργό μετεγχειρητικά και παράλληλα καθιστά δυνατή τη διαχείριση ασθενών που βρίσκονται σε γεωγραφικά απομακρυσμένες περιοχές. Το σύστημα παρέχει επιπλέον και τη δυνατότητα διαχείρισης περισσότερων του ενός ασθενούς για παρατεταμένο χρονικό διάστημα. Αν και έγινε επιτυχής αξιολόγηση του συστήματος σε προκλινικό επίπεδο, τα συμπεράσματα της παρούσας μελέτης δεν είναι δυνατό να αναχθούν στις περιπτώσεις καταγμάτων σε ανθρώπους. Η ενσωμάτωση στο σύστημα αλγόριθμων σχετικά με τη λήψη αποφάσεων θα επιληφθεί της ανάγκης για αντικειμενική και ποσοτική παρέμβαση στην εξέλιξη της πώρωσης.

Από όλα τα παραπάνω καθίσταται κατανοητό ότι η μελλοντική χρήση του συστήματος εφαρμογής χαμηλής έντασης υπερήχων για την ταυτόχρονη ευόδωση και παρακολούθηση της εξέλιξης της πώρωσης θα αποτελέσει μια πρωτοποριακή καινοτομία για τη σύγχρονη Ορθοπαιδική. Εφόσον η αξία του συστήματος επιβεβαιωθεί και στον άνθρωπο μετά από κλινικές δοκιμές, τα ευεργετήματα για τον ασθενή και τα πλεονεκτήματα της μεθόδου για το θεράποντα ιατρό θα είναι σημαντικά. Ένα βασικό ευεργέτημα για τον ασθενή είναι η

ελαχιστοποίηση των κοινωνικοοικονομικών συνεπειών που επιφέρει στη ζωή του η πρόκληση ενός οστικού κατάγματος. Παράλληλα, η μείωση της επιβάρυνσης από την ιονίζουσα ακτινοβολία και η αποφυγή των επιπλοκών που συνεπάγεται ένα κάταγμα, αποτελούν σημαντικούς παράγοντες για την καλή υγεία του ασθενούς. Ως αδυναμία της μεθόδου μπορεί να θεωρηθεί το γεγονός ότι η εξαγωγή των μεταλλακτών μετά το πέρας της θεραπείας είναι μια αιματηρή τεχνική, η οποία απαιτεί χειρουργείο. Παρόλα αυτά, τα περιθώρια βελτίωσης της τεχνικής είναι ευρέα με αποτέλεσμα να καταστεί δυνατή η εξαγωγή των μεταλλακτών σε επίπεδο εξωτερικών ιατρείων και με τη χρήση τοπικής αναισθησίας. Για το θεράποντα ιατρό, το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι το σύστημα των υπερήχων εκτός του ότι προάγει την πύρωση, αποτελεί και ένα μοντέρνο σύστημα τηλεϊατρικής που του δίνει τη δυνατότητα για άμεση και έγκαιρη λήψη αποφάσεων όσον αφορά την αντιμετώπιση τυχόν επιπλοκών.

### Συμπεράσματα

Η χειρουργική εμφύτευση πολύ μικρών σε μέγεθος μεταλλακτών στην εστία του κατάγματος εξασφαλίζει την αποδοτική μετάδοση των χαμηλής έντασης υπερήχων στην περιοχή ενδιαφέροντος και παράλληλα πα-

ρέχει τη δυνατότητα ανάκτησης σημάτων προκειμένου για την αξιολόγηση της εξέλιξης της πύρωσης. Κατεδείχθη ότι η διοστική εφαρμογή των χαμηλής έντασης υπερήχων έχει θετική επίδραση στην ευόδωση της πύρωσης κατάγματος στα μακρά οστά. Η εκατοστιαία αναλογία των ζώων της ομάδας θεραπείας τα οποία εμφάνισαν ακτινολογική πύρωση ήταν μεγαλύτερη συγκριτικά με την αντίστοιχη αναλογία των ζώων της ομάδας ελέγχου. Σε ότι αφορά την οστική πυκνότητα και τις μηχανικές ιδιότητες του νεοσχηματισθέντος πύρου, αυτές παρουσίασαν στατιστικά υψηλότερες τιμές στο δείγμα που έλαβε θεραπεία με υπερήχους. Το προτεινόμενο φορητό σύστημα που αναπτύχθηκε είναι ένα πρωτοποριακό εργαλείο τηλεϊατρικής με δυνατότητα τόσο για την ευόδωση, όσο και για την παρακολούθηση της διεργασίας της πύρωσης. Η συνέχιση της έρευνας σε κλινικό επίπεδο θα δώσει απαντήσεις σχετικές με τη λειτουργικότητα και την αποτελεσματικότητα του συστήματος σε ανθρώπους.

### Περίληψη

Σκοπός της παρούσας πειραματικής μελέτης είναι α)η διερεύνηση της διοστικής εφαρμογής των χαμηλής έντασης παλμικών υπερήχων για την ευόδωση της πύρωσης των καταγμάτων και β)η κατάδειξη της δυ-



νατότητας παρακολούθησης της εξέλιξης της πώρωσης μέσα από τη διάδοση του κύματος των χαμηλής έντασης υπερήχων. Χρησιμοποιήθηκε μοντέλο οστεοτομίας στο μέσο της διάφυσης της κνήμης σε 40 σκελετικά ώριμα πρόβατα ενώ για τη συγκράτηση της ανάταξης και τη σταθεροποίηση εφαρμόστηκε συσκευή εξωτερικής οστεοσύνθεσης. Δύο μεταλλάκτες υπερήχων εμφυτεύτηκαν στην εστία του κατάγματος και σε επαφή με το οστό. Για τη διερεύνηση της αποτελεσματικότητας των χαμηλής έντασης υπερήχων, τα ζώα χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ισάριθμες ομάδες, την ομάδα θεραπείας και την ομάδα ελέγχου. Τα ζώα της ομάδας θεραπείας έλαβαν αλληλουχίες ημιτονοειδών κυμάτων διάρκειας 200  $\mu\text{sec}$ , κεντρικής συχνότητας 1 MHz, ρυθμού επανάληψης παλμού 1 kHz και μέσης έντασης 30  $\text{mW}/\text{cm}^2$  για 20 min ημερησίως. Για την παρακολούθηση της εξέλιξης της πώρωσης δημιουργήθηκε μια βάση δεδομένων με κυματομορφές από ανακτηθέντα σήματα υπερήχων που αφορούσαν τα 20 ζώα της ομάδας θεραπείας και 10 ζώα από την ομάδα ελέγχου. Η θυσία των ζώων έγινε την 100<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα. Η επίδραση των υπερήχων στην ευόδωση της πώρωσης αξιολογήθηκε μετά από ακτινολογικό έλεγχο, εμβιομηχανική δοκιμασία λυγισμού τριών σημείων και μέτρηση της οστικής πυκνότη-

τας με χρήση ποσοτικής υπολογιστικής τομογραφίας. Η ανάλυση επιβίωσης με χρήση των καμπυλών Kaplan-Meier κατέδειξε στατιστικά υψηλότερη πιθανότητα ακτινολογικής πώρωσης για τα ζώα της ομάδας θεραπείας ( $p = 0,009$ ). Στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε επίσης για την οστική πυκνότητα ( $p = 0,003$ , Wilcoxon non-parametric test), το φορτίο θραύσης ( $p = 0,001$ ), την ακαμψία ( $p = 0,019$ ), το Young's Modulus ( $p = 0,043$ ) και τη μέγιστη αντοχή ( $p = 0,051$ ) προς όφελος των ζώων που έλαβαν θεραπεία με υπερήχους. Η ανάλυση των κυματομορφών που αντιστοιχούσαν στα ανακτηθέντα σήματα των υπερήχων κατέδειξε ότι η ταχύτητα διάδοσης αυτών διαμέσου του πώρου αποτελεί μια σημαντική παράμετρο με δυνατότητα πρώιμης διάκρισης μεταξύ πωρωθέντων και μη πωρωθέντων οστών (η περιοχή κάτωθεν της καμπύλης λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη, ROC ήταν 0,810 και 0,841 την 80<sup>η</sup> και 100<sup>η</sup> μετεγχειρητική ημέρα αντίστοιχα). Η εφαρμογή των υπερήχων τόσο για τη θεραπεία όσο και για την παρακολούθηση της πώρωσης, υποστηρίζεται από ένα ολοκληρωμένο σύστημα τηλεϊατρικής, το οποίο ενσωματώνει μια φορητή συσκευή και μια κεντρική μονάδα διαχείρισης των ασθενών.

## Abstract

---

The purpose of this study is twofold: a) to investigate the application of transosseous low-intensity pulsed ultrasound (LiUS) on the enhancement of fracture healing and b) to demonstrate the ability of transosseous ultrasound propagation to monitor the healing process. A midshaft tibial osteotomy model was used on 40 skeletally mature sheep and an external fixator was applied to maintain the reduction and stabilization of the osteotomy. Two ultrasound transducers were implanted into the fracture site in contact with the bone. For investigating the efficacy of LiUS, the animals were randomly divided in two equal groups; the treatment group and the control group. The LiUS-treated animals received 200- $\mu$ sec bursts of 1 MHz sine waves with a pulse repetition rate of 1 KHz and average intensity of 30 mW/cm<sup>2</sup>, for 20 min daily. For monitoring purposes, an ultrasound dataset was constructed consisting of serial ultrasound measurements obtained from healing bones. Animals' sacrifice took place on the 100<sup>th</sup> post-operative day. The effect of LiUS on fracture healing was evaluated using radiographs, destructive three-point bending testing

and quantitative CT-based bone mineral density (BMD) measurements. Survival analysis using Kaplan-Meier curves showed significantly higher probability of radiographic healing for the animals in the treatment group ( $p = 0.009$ ). Statistical significance was also observed for callus BMD ( $p = 0.003$ , Wilcoxon non-parametric test), load to fracture ( $p = 0.001$ ), extrinsic stiffness ( $p = 0.019$ ), Young's modulus ( $p = 0.043$ ) and ultimate strength ( $p = 0.051$ ) in favour of the LiUS-treated limbs. Analysis of the obtained ultrasonic measurements showed that the propagation velocity across healing bones constitutes a significant feature able to early distinguish between healed and non-healed bones (area under ROC curve was 0.810 and 0.841 on the 80<sup>th</sup> and 100<sup>th</sup> post-operative day, respectively). Both the LiUS application and the ultrasonic measurements are supported by an integrated telemedicine system which also incorporates an ultrasound wearable device and a patient management system.

**Keywords:** Low-intensity pulsed ultrasound, acceleration of fracture healing, monitoring of fracture healing, animal fracture model, wearable medical devices, telemedicine.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

---

1. Καραχάλιος Θ. Πώρωση καταγμάτων. Στο: ΔΕΠ Α' Ορθοπαιδικής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών (Συγγραφείς). *Ορθοπαιδική και Τραυματολογία*. Αθήνα 2001, Ιατρικές Εκδόσεις Κωνσταντάρης σελ. 65-67
2. Einhorn AT. The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop* 1998;358(Suppl):7-21
3. Einhorn AT. Current concepts review: Enhancement of fracture healing. *J Bone Joint Surg* 1995;77A:940-956
4. Frost HM. Structural adaptations to mechanical usage. A proposed "three-way rule" for lamellar bone modeling. *Comp Vet Orthop Trauma* 1988;Part I:7-17, Part II:80-85
5. Frost HM. The mechanostat: A proposed pathogenic mechanism of osteoporosis and the bone mass effects of mechanical and nonmechanical agents. *Bone Min* 1987;2:73-85
6. Wolf J. Das gesetz der transformation der knochen. Berlin, Hirschwalk, 1892
7. Price P, Parthemore J, Deftos J. New biochemical marker for bone metabolism. *J Clin Invest* 1980;66:878
8. Danis R. Theorie et pratique de l'osteosynthese. Paris, Masson, 1949
9. Steinemann SG. Implants for stable fixation of fractures. In: Rubin LR (ed). *Biomaterials in reconstructive surgery*. St. Louis, CV Mosby 1983:283-311
10. McKibbin B. The biology of fracture healing in long bones. *J Bone Joint Surg* 1978;60B:150-162
11. Hirakawa K, Hirota S, Ikeda T. Localization of the mRNA for bone matrix proteins during fracture healing as determined by in situ hybridization. *J Bone Miner Res* 1994;9:1551-1557
12. Bolander MT. Regulation of fracture repair by growth factors. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992;200:165-170
13. Dekel S, Lenthall G, Francis MO. Release of prostaglandins from bone and muscle after tibial fracture. An experimental study in rabbit. *J Bone Joint Surg* 1981;63B:185-192
14. Klein C, Raisz G. Prostaglandins: Stimulation of bone resorption in tissue culture. *Endocrinology* 1978;86:1436
15. Farley R, Baylink J. Purification of a skeletal growth factor of human bone. *Biochemistry* 1982;21:3502
16. Frost M. Skeletal physiology and bone remodeling: An overview. In: Urist MR (ed). *Fundamental and clinical bone physiology*. Philadelphia, JB Lippincot 1980: 208-241



17. Chapman W. Prostaglandins and secondary injury phenomenon.  
*In: Lane J. M. (ed). Fracture healing.* London, Churchill Livingstone, 1987
18. Elves W, Bayley I, Roylance J. The effect of indomethacin upon experimental fractures in the rat. *Acta Orthop Scand* 1982;53:35
19. Keller J, Buenger C, Andreanssen T, Bak B, Lucht. Bone repair inhibited by indomethacin. Effects on bone metabolism and strength of rabbit osteotomies.  
*Acta Orthop Scand* 1987;58:379
20. Canalis E, McCarthy T, Centrella M. Growth factors and regulation of bone remodeling.  
*J Clin Invest* 1988;81:277-281
21. Celeste J, Iannazzi A, Taylor C. Identification of transforming growth factor beta family members present in bone inductive protein purified from bovine bone.  
*Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:9843-9847
22. Jingushi S, Heydemann A, Kana K, Macey R, Bolander E. Acidic fibroblast growth factor (aFGF) injection stimulates cartilage enlargement and inhibits cartilage gene expression in rat fracture healing. *J Orthop Res* 1990;8:364-371
23. Joyce E, Jingushi S, Bolander E. Transforming growth factor beta in the regulation of fracture repair. *Orthop Clin North Am* 1990;21:199-209
24. Reddi H, Anderson A. Collagenous bone matrix-induced endochondral ossification and hemopoiesis. *J Cell Biol* 1976;69:557-572
25. Reddi H. Cell biology and biochemistry of endochondral bone development.  
*Collagen Rel Res* 1981;1:209-226
26. Reddi H. Extracellular matrix and development. *In: Pietz KA, Reddi H (eds). Extracellular matrix biochemistry.* New York, Elsevier 1984:247-291
27. Day SM, Ostrum RF, Chao EYS, et al. Bone injury, regeneration, and repair.  
*In: Buckwalter JA, Einhorn TA, Simon SR (eds). Orthopaedic basic science. Biology and biomechanics of the musculoskeletal system, 2nd ed.* Rosemont, American Academy of Orthopaedic Surgeons 2000:371-399
28. Hiltunen A, Aro T, Vuorio E. A standardized experimental fracture in the mouse tibia.  
*J Orthop Res* 1993;11:305-312
29. Einhorn A, Hirschman A, Kaplan C. Neutral protein-degrading enzymes in experimental fracture callus. A preliminary report. *J Orthop Res* 1989;7:792-805
30. Lee H, Choi W, Behrens F, DeFouw O, Einhorn A. Programmed removal of chondrocytes during endochondral fracture healing. *J Orthop Res* 1998;16:144-150
31. Campbell R, Kaplan S. The role of morphogens in endochondral ossification.  
*Calcif Tissue Int* 1992;50:283-289
32. Mendler M, Vaughn L. Cartilage contains mixed fibrils of collagen types II, IX and XI.  
*J Cell Biol* 1989;108:191-197

33. Jingushi S, Joyce E, Bolander E. Genetic expression of extracellularmatrix proteins correlates with histologic changes during fracture repair.  
*J Bone Miner Res* 1992;7:1045-1055
34. Aro HT, Wipperman BW, Hodgson SF et al. Prediction of properties of fracture callus by measurement of mineral density using micro-bone densitometry.  
*J Bone Joint Surg* 1989;71A:1020-1030
35. Chao EYS, Aro HT. Biomechanics of fracture fixation. In: *Mow VC, Hayes WC (eds). Basic orthopaedic biomechanics*. New York: Raven Press 1991:293-335
36. McCoy MT, Chao EYS, Kasman RA. Comparison of mechanical performance in four types of external fixators. *Clin Orthop* 1983;180:23-33
37. Panjabi MM, White AA, Wolf JW. A biomechanical comparison of the effects of constant and cyclic compression on fracture healing in rabbit long bones.  
*Acta Orthop Scand* 1979;50:653-661
38. White AA, Panjabi MM, Southwick WO. The four biomechanical stages of fracture repair.  
*J Bone Joint Surg* 1977;59A:188-192
39. White AA, Panjabi MM, Southwick WO. Effects of compression and cyclical loading on fracture healing. A quantitative biomechanical study. *J Biomech* 1977;10:233-239
40. Sarmiento A, Sobol A, Hoy L. Prefabricated functional braces for the treatment of fractures of the tibial diaphysis. *J Bone Joint Surg* 1984;66A:1328-1340
41. Perren M. Biomechanik der Frakturheilung.  
*Orthopaede* 1974;3:135-139
42. Claes L, Wilke J, Augat P. The influence of fracture gap size and stability on bone healing. *Transactions of the 40th Annual Meeting Orthopaedic Research Society*, New Orleans, LA 1994;19:203
43. Goodship E, Kenwright J. The influence of induced micro movement upon the healing of experimental fractures. *J Bone Joint Surg* 1985;67B:650-655
44. Claes L, Augat P, Suger G, Wilke J. Influence of size and stability of the osteotomy gap on the success of fracture healing. *J Orthop Res* 1997;15:577-584
45. Bassett CAL, Hermann I. Influence of oxygen concentration and mechanical factors on differentiation of connective tissue in vitro. *Nature* 1961;190:460-461
46. Perren M. Physical and biological aspects of fracture healing with special reference to internal fixation. *Clin Orthop* 1979;138:175-196
47. Claes L, Heigele C, Wilke C, Kaspar D, et al. Effects of mechanical factors on the fracture healing process. *Clin Orthop* 1998;358(Suppl):132-147
48. Dartsch C, Betz E. Cellular and cytoskeletal response of vascular cells to mechanical stimulation. In: *Planck H, Daumer M, Renandy M (eds). Medical textiles for implantation*. Berlin, Springer 1990:193-218

49. Egger L, Lewallen G, Norrдин W. Effects of increasing rigidity of initially flexible external fixation on healing of canine osteotomies. *Transactions of the 13th International Conference on Hoffmann External Fixation*, Mayo Clinic Rochester, MN 1989:41
50. Samuel L, Vandenburg H. Mechanically induced orientation of adult rat cardiac myocytes in vitro. *Cell Dev Biol* 1990;26:905-914
51. Goodship E, Cunningham J, Kenwright J. Strain rate of stimulation in mechanical modulation of fracture healing. *Clin Orthop* 1998;358(Suppl):105-115
52. Allen WC, Heiple KG, Burstein AH. A fluted femoral intramedullary rod. *J Bone Joint Surg* 1978;60A:506-515
53. Juan JA, Prat J, Vera P, et al. Biomechanical consequences of callus development in Hoffmann, Wagner, Orthofix, and Ilizarov external fixators. *J Biomech* 1992;25:995-1006
54. Huiskes R, Chao EYS. Guidelines for external fixation frame rigidity and stresses. *J Orthop Res* 1986;4:68-75
55. Burchardt H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop* 1983;42:28-42
56. Meek'ren JJV. *Observationes medico-chirurgicae*. Amsterdam, H&T Boom 1682
57. Burwell R. Studies in the transplantation of bone: VII. The fresh composite homograft-autograft of cancellous bone: An analysis of factors leading to osteogenesis in marrow transplants and in marrow-containing bone grafts. *J Bone Joint Surg Br* 1964;46:110
58. Heiple K, Chase S, Herndon C. A comparative study of the healing process following different types of bone transplantation. *J Bone Joint Surg Am* 1963;45:1592
59. Muschler GF, Lane JM. Spinal fusion: Principles of bone fusion. In: Rothman, Simeone (eds). *The spine, 4th ed*. Philadelphia, WB Saunders, 1999
60. Sandhu H, Boden S. Biologic enhancement of spinal fusion. *Orthop Clin North Am* 1998;29:621-631
61. Damien CJ, Parsons JR. Bone graft and bone graft substitutes: a review of current technology and applications. *J Appl Biomater* 1991;2:187-208
62. Meister K, Segal D, Whitelaw GP. The role of bone grafting in the treatment of delayed unions and nonunions of the tibia. *Orthop Rev* 1990;19:260-271
63. Burwell RG. The fate of bone grafts. In: Apley AG (ed). *Recent advances in orthopaedics*. London, Churchill Livingstone 1969:115-207
64. Ray RD. Vascularization of bone graft and implants. *Clin Orthop* 1972;87:43-48
65. Friedlander G. Bone grafts: The basic science rationale for clinical applications. *J Bone Joint Surg Am* 1987;69:786-790
66. Enneking WF, Burchardt H, Puhl JJ, Piotrowski G. Physical and biological repair in dog cortical-bone transplants. *J Bone Joint Surg* 1975;57A:237-252
67. Stevenson S, Li XQ, Martin B. The fate of cancellous and cortical bone after transplantation of fresh and frozen tissue-antigen-matched and mismatched osteochondral allografts in dogs. *J Bone Joint Surg* 1991;73A:1143-1156



68. Feighan JE, Stevenson S, Emery S. Biological and biomechanical evaluation of posterior lumbar fusion in the rabbit: The effect of fixation rigidity. *Spine* 1995;20:1561-1567
69. Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in the repair of bone: Biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg Am* 2002;84A:1032-1044
70. Solheim E. Growth factors in bone. *Int Orthop* 1998;22:410-416
71. Joyce ME, Jingushi S, Scully SP. Role of growth factors in fracture healing. *Prog Clin Biol Res* 1991;365:391-416
72. Simmons DJ. Fracture healing perspectives. *Clin Orthop* 1985;200:100-113
73. Hollinger J, Wong MEK. The integrated process of hard tissue regeneration with special emphasis on fracture healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod* 1996;82:594-606
74. Bostrom MP, Saleh KJ, Einhorn TA. Osteoinductive growth factors in predinical fracture and long bone defects models. *Orthop Clin North Am* 1999;30:647-658
75. Urist M. Bone: formation by autoinduction. *Science* 1965;150:893
76. Ripamonti U, Duneas N. Tissue morphogenesis and regeneration by bone morphogenetic proteins. *Plast Reconstr Surg* 1998;101:227-239
77. Cook SD, Salkeld SL, Brinker MR, Wolfe MW, Rueger DC. Use of an osteoinductive biomaterial (RhOP-1) in healing large segmental bone defects. *J Orthop Trauma* 1998;12:407-412
78. Sciadini MF, Dawson JM, Johnson KD. Bovine-derived bone protein as a bone graft substitute in a canine segmental defect model. *J Orthop Trauma* 1997;11:496-508
79. Arnaud E, De Pollak C, Meunier A, et al. Osteogenesis with coral is increased by BMP and BMC in a rat cranioplasty. *Biomaterials* 1999;20:1909-1918
80. Bostrom M, Lane J, Berberian W, et al. Immunolocalization of expression of bone morphogenetic proteins 2 and 4 in fracture healing. *J Orthop Res* 1995;13:357-367
81. Lieberman JR, Conduah A, Urist MR. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with core decompression and human bone morphogenetic protein. *Clin Orthop* 2004;429:139-145
82. Johnson EE, Urist MR, Finerman GA. Distal metaphyseal tibial nonunion: deformity and bone loss treated by open reduction, internal fixation, and human bone morphogenetic protein (hBMP). *Clin Orthop* 1990;250:234-240
83. Johnson EE, Urist MR, Finerman GA. Resistant nonunions and partial or complete segmental defects of long bones: treatment with implants of a composite of human bone morphogenetic protein (BMP) and autolyzed, antigen-extracted, allogeneic (AAA) bone. *Clin Orthop* 1998;277:229-237
84. Johnson EE, Urist MR. Human bone morphogenetic protein allografting for reconstruction of femoral nonunion. *Clin Orthop* 2000;371:61-74
85. Riedel GE, Valentin-Opran A. Clinical evaluation of rhBMP-2/ACS in orthopaedic trauma: a progress report. *Orthopaedics* 1999;22:663-665

86. Cook SD. Preclinical and clinical evaluation of osteogenic protein-1 (BMP-7) in bony sites. *Orthopaedics* 1999;22:669-671
87. Evans CH, Robbins PD. Possible orthopaedic applications of gene therapy. *J Bone Joint Surg Am* 1995;77:1103
88. Evans CH, Robbins PD, Ghivizzani SC, et al. Clinical trial to assess the safety, feasibility, and efficacy of transferring a potentially anti-arthritic cytokine gene to human joints with rheumatoid arthritis. *Hum Gene Ther* 1996;7:1261
89. Nakamura N, Shino K, Natsuume T, et al. Early biological effect of in vivo gene transfer of platelet-derived growth factor (PDGF)-B into healing patellar ligament. *Gene Ther* 1998;5:1165
90. Blesch A, Vy HS, Diergardt N, et al. Neurite outgrowth can be modulated in vitro using a tetracycline-repressible gene therapy vector expressing human nerve growth factor. *J Neurosci Res* 2000;59:402-409
91. Rang A, Will H. The tetracycline-responsive promoter contains functional interferon-inducible response elements. *Nucleic Acids Res* 2000;28:1120-1125
92. Niyibizi C, Baltzer A, Lattermann C, et al. Potential role for gene therapy in the enhancement of fracture healing. *Clin Orthop* 1998;355(Suppl):148-153
93. Lieberman JR, Daluiski A, Stevenson S, et al. The effect of regional gene therapy with BMP-2 producing bone marrow cells on the repair of segmental femoral defects in rats. *J Bone Joint Surg Am* 1999;81:905-917
94. Lee JY, Musgrave D, Pelinkovic D, et al. Effect of bone morphogenetic protein-2-expressing muscle-derived cells on healing of critical-sized bone defects in mice. *J Bone Joint Surg Am* 2001;83A:1032-1039
95. Hidaka C, Goshi K, Rawlins B, et al. Enhancement of spine fusion using combined gene therapy and tissue engineering BMP-7 expressing bone marrow cells and allograft bone. *Spine* 2003;28:2049-2057
96. White E, Shors EC. Biomaterial aspects of interpore-200 porous hydroxyapatite. *Dent Clin North Am* 1986;30:49-67
97. Bauer TW, Muschler GF. Bone graft materials: an overview of the basic science. *Clin Orthop* 2000;371:10-27
98. Hannouche D, Petite H, Sedel L. Current trends in the enhancement of fracture healing. *J Bone Joint Surg Br* 2001;83B:157-164
99. Block JE, Thorn MR. Clinical indications of calcium-phosphate biomaterials and related composites for orthopaedic procedures. *Calcif Tissue Int* 2000;66:234-238
100. Ohgushi H, Okumura M, Yoshikawa T, et al. Bone formation process in porous calcium carbonate and hydroxyapatite. *J Biomed Mater Res* 1992;26:885-895
101. Delecrin J, Takahashi S, Gouin F, Pasutti N. A synthetic porous ceramic as a bone graft substitute in the surgical management of scoliosis: a prospective randomized study. *Spine* 2000;25:563-569

102. Sanchez-Sotelo J, Munuera L, Madero R. Treatment of fractures of the distal radius with a remodellable bone cement: a prospective randomized study using Norian SRS.  
*J Bone Joint Surg (Br)* 2000;82B:856-863
103. Chiroff R, Weber J, White E. Tissue ingrowth of replamineform implants.  
*J Biomed Mater Res* 1975;6:29
104. Guillemain G, Meunier A, Dallant P, et al. Comparison of coral resorption and bone apposition with two natural corals of different porosities.  
*J Biomed Mater Res* 1989;23:765-779
105. Guillemain G, Meunier A, Dallant P, et al. Comparison of coral resorption and bone apposition with two natural corals of different porosities.  
*J Biomed Mater Res* 1989;23:765-779
106. Roudier M, Bouchon C, Rouvillain JL, et al. The resorption of bone-implanted corals varies with porosity but also with the host reaction.  
*J Biomed Mater Res* 1995;29:909-915
107. Shors EC. Coralline bone graft substitutes.  
*Orthop Clin North Am* 1999;30:599-613
108. Bruder SP, Fox BS. Tissue engineering of bone: cell based strategies.  
*Clin Orthop* 1999;Suppl367:68-83
109. Bianco P, Gehron Robey P. Marrow stromal stem cells.  
*J Clin Invest* 2000;105:1663-1668
110. Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues.  
*Science* 1997;276:71-74
111. Maniatopoulos C, Sodek J, Melcher AH. Bone formation in vitro by stromal cells obtained from bone marrow of young adult rats. *Cell Tissue Res* 1988;254:317-330
112. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284:143-147
113. Bruder SP, Kraus KH, Goldberg VM, Kadiyala S. The effect of implants loaded with autologous mesenchymal stem cells on the healing of canine segmental bone defects.  
*J Bone Joint Surg (Am)* 1998;80A:985-996
114. Petite H, Viateau V, Bensaid W, et al. Tissue-engineered bone regeneration.  
*Nat Biotechnol* 2000;18:959-963
115. Peltier LF. A brief historical note on the use of electricity in the treatment of fractures.  
*Clin Orthop* 1981;161:4-7
116. Anglen J. Enhancement of fracture healing with bone stimulators.  
*Tech Orthop* 2002;17:506-514
117. Marino AA, Becker RO. Origin of the piezoelectric effect in bone.  
*Calcif Tissue Res* 1971;8:177-180
118. Hastings GW, Mahmud FA. Electrical effects in bone.  
*J Biomed Eng* 1988;10:515-521



119. Fukada E, Yasuda I. On the piezoelectric effect on bone.  
*J Physiol Soc Japan* 1957;12:1158-1162
120. Yasuda I. Fundamental aspects of fracture treatment.  
*J Kyoto Med Soc* 1953;4:395-406
121. Bassett C, Becker R. Generation of electrical potentials by bone in response to mechanical stress. *Science* 1962;137:1063-1064
122. Friedenberg ZB, Brighton CT. Bioelectric potentials in bone.  
*J Bone Joint Surg (Am)* 1966;48:915-923
123. Bodamyali T, Kanczler JM, Simon B, et al. Effect of faradic products on direct current-stimulated calvarial organ culture calcium levels.  
*Biochem Biophys Res Comm* 1999;264:657-661
124. Bozic KJ, Glazer PA, Zurakowski D, et al. In vivo evaluation of coralline hydroxyapatite and direct current electrical stimulation in lumbar spinal fusion. *Spine* 1999;24:2127-2133
125. Buch F, Albrektsson T, Herbst E. The bone growth chamber for quantification of electrically induced osteogenesis. *J Ortho Res* 1986;4:194-203
126. Luben RA, Cain CD, Chen MC, et al. Effects of electromagnetic stimuli on bone and bone cells in vitro: inhibition of responses to parathyroid hormone by low-energy, low frequency fields. *Proc Natl Acad Sci* 1982;79:4180
127. Yen-Patton GP, Patton WF, Beer DM, Jacobson BS. Endothelial cell response to pulsed electromagnetic fields: stimulation of growth rate and angiogenesis in vitro.  
*J Cell Physiol* 1988;134:37-46
128. Bodamyali T, Bhatt B, Hughes JF, et al. Pulsed electromagnetic fields simultaneously induce osteogenesis and upregulate transcription of bone morphogenic proteins 2 and 4 in rat osteoblasts in vitro. *Biochem Biophys Res Comm* 1998;250:458-461
129. Ryaby JT. Clinical effects of electromagnetic and electric fields on fracture healing.  
*Clin Orthop* 1998;355Suppl:205-215
130. Zhuang H, Wang W, Seldes RM, et al. Electrical stimulation induces the level of TGF- $\beta$ 1 mRNA in osteoblastic cells by a mechanism involving calcium/calmodulin pathway. *Biochem Biophys Res Comm* 1997;237:225-229
131. Dwyer AF, Wickham GG. Direct current stimulation in spinal fusion.  
*Med J Aust* 1974;1:73
132. Paterson DC, Lewis GN, Cass CA. Treatment of delayed union and nonunion with an implanted direct current stimulator. *Clin Orthop* 1980;148:117-128
133. Sharrard WJW. A double-blind trial of pulsed electromagnetic fields for delayed union of tibial fractures. *J Bone Joint Surg (Br)* 1990;72:347-355
134. Scott G, King JB. A prospective, double-blind trial of electrical capacitive coupling in the treatment of nonunion of the long bones. *J Bone Joint Surg (Am)* 1994;76:820-826

135. Ziskin MC. Applications of ultrasound in medicine – comparison with other modalities. *In: Rapacholi MH, Grandolfo M, Rindi A (eds). Ultrasound: medical applications, biological effects, and hazard potential.* New York, Plenum Press 1987:49-59
136. Dyson M. Therapeutic applications of ultrasound. *In: Nyborg WL, Ziskin MC (eds). Biological effects of ultrasound.* New York, Churchill Livingstone 1985:121-133
137. Wells PNT. Surgical applications of ultrasound. *In: Nyborg WL, Ziskin MC (eds). Biological effects of ultrasound.* New York, Churchill Livingstone 1985:157-167
138. Kaufman JJ, Einhorn TA. Ultrasound assessment of bone. *J Bone Miner Res* 1993;8:517-525
139. St John Brown R. How safe is diagnostic ultrasonography? *J Can Med Assoc* 1984;131:307-311
140. Huiskes R, Ruimerman R, van Lenthe GH, Janssen JD. Effects of mechanical forces on maintenance and adaptation of form in trabecular bone. *Nature* 2000;405:704-706
141. Duncan RL, Turner CH. Mechanotransduction and the functional response of bone to mechanical strain. *Calcif Tissue Int* 1995;57:344-358
142. Rubin CT, Lanyon LE. Regulation of bone mass by mechanical strain magnitude. *Calcif Tissue Int* 1985;37:411-417
143. Wallace AL, Draper ER, Strachan RK, et al. The vascular response to fracture micromovement. *Clin Orthop* 1994;301:281-290
144. Gross TS, Edwards JL, McLeod KJ, Rubin CT. Strain gradients correlate with sites of periosteal bone formation. *J Bone Miner Res* 1997;12:982-988
145. Wu J, Du G. Temperature elevation in tissues generated by finite-amplitude tone bursts of ultrasound. *J Acoust Soc (Am)* 1990;88:1562-1577
146. Welgus HG, Jeffrey JJ, Elsen AZ. Human skin fibroblast collagenase. Assessment of activation energy and deuterium isotope effect with collagenous substrates. *J Biol Chem* 1981;256:9516-9521
147. Dee C, Shim J, Rubin C, McLeod K. Modulation of osteoblast proliferation and differentiation by subtle alterations in temperature. *Trans Orthop Res Soc* 1996;21:341
148. Kamakura T, Matsuda K, Kumamoto Y. Acoustic streaming induced in focused Gaussian beams. *J Acoust Soc (Am)* 1995;97:Pt 1, 2740-2746
149. Weinbaum S, Cowin SC, Zeng Y. A model for the excitation of osteocytes by mechanical loading-induced bone fluid shear stresses. *J Biomech* 1994;27:339-360
150. Skerry T, Bitensky L, Chayen J, Lanyon LE. Early strain-related changes in enzyme activity in osteocytes following bone loading in vivo. *J Bone Miner Res* 1989;4:783-788
151. Corradi C, Cozzollino A. The action of ultrasound in the evolution of an experimental fracture in rabbits. *Minerva Ortop* 1952;55:44-45 Italian.
152. Corradi C, Cozzollino A. Ultrasound and bone callus formation during function. *Arch Ortop* 1953;66:77-98 Italian.

153. Dyson M, Brookes M. Stimulation of bone repair by ultrasound.  
*Ultrasound Med Biol* 1983;2(Suppl):61-66
154. Xavier CAM, Duarte LR. Stimulation of bone callus by ultrasound.  
*Rev Brasil Ortop* 1983;18:73-80 Portuguese.
155. Duarte LR. The stimulation of bone growth by ultrasound.  
*Arch Orthop Trauma Surg* 1983;101:153-159
156. Pilla AA, Mont MA, Nasser PR, et al. Non-invasive low intensity pulsed ultrasound accelerates bone healing in the rabbit. *J Orthop Trauma* 1990;4:246-253
157. Wang SJ, Lewallen DG, Bolander ME, et al. Low intensity ultrasound treatment increases strength in a rat femoral fracture model. *J Orthop Res* 1994;12:40-47
158. Jingushi S, Azuma Y, Ito M, et al. Effects of non-invasive pulsed low-intensity ultrasound on rat femoral fracture. *In Proceedings of the Third World Congress of Biomechanics*, 1998:175b
159. Rubin C, Bolander M, Ryaby JP, Hadjiargyrou M. Current Concepts Review: The use of low-intensity ultrasound to accelerate the healing of fractures.  
*J Bone Joint Surg (Am)* 2001;83A:259-270
160. Shimazaki A, Inui K, Azuma Y, Nishimura N, Yamano Y. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates bone maturation in distraction osteogenesis in rabbits.  
*J Bone Joint Surg (Br)* 2000;82:1077-1082
161. Glazer PA, Heilmann MR, Lotz JC, Bradford DS. Use of ultrasound in spinal arthrodesis. A rabbit model. *Spine* 1998;23:1142-1148
162. Hantes ME, Mavrodontidis AN, Zalavras CG, Karantanas AH, Karachalios T, Malizos KN. Low intensity transosseous ultrasound accelerates osteotomy healing in a sheep fracture model. *J Bone Joint Surg (Am)* 2004;86A:2275-2282
163. Shimazaki A, Inui K, Azuma Y, et al. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates bone maturation in distraction osteogenesis in rabbits.  
*J Bone Joint Surg* 2000;82B:1077-1082
164. Ebersson CP, Hogan KA, Moore DC, Ehrlich MG. Effect of low-intensity ultrasound stimulation on consolidation of the regenerate zone in a rat model of distraction osteogenesis. *J Pediatr Orthop* 2003;23:46-51
165. Tis JE, Meffert CR, Inoue N, et al. The effect of low intensity pulsed ultrasound applied to rabbit tibiae during the consolidation phase of distraction osteogenesis.  
*J Orthop Res* 2002;20:793-800
166. Uglow MG, Peat RA, Hile MS, et al. Low-intensity ultrasound stimulation in distraction osteogenesis in rabbits. *Clin Orthop* 2003;417:303-312
167. Chapman IV, MacNally NA, Tucker S. Ultrasound-induced changes in rates of influx and efflux of potassium ions in rat thymocytes in vitro.  
*Ultrasound Med Biol* 1980;6:47-58



168. Ryaby JT, Bachner EJ, Bendo JA, et al. Low intensity pulsed ultrasound increases calcium incorporation in both differentiating cartilage and bone cell cultures. *Trans Orthop Res Soc* 1989;14:15
169. Ryaby JT, Mathew J, Pilla AA, Duarte-Alves P. Low-intensity pulsed ultrasound modulates adenylate cyclase activity and transforming growth factor beta synthesis. *In: Brighton CT, Pollack SR (eds). Electromagnetics in medicine and biology.* San Francisco Press 1991:95-100
170. Ryaby JT, Mathew J, Duarte-Alves P. Low intensity pulsed ultrasound affects adenylate cyclase activity and TGF- $\beta$  synthesis in osteoblastic cells. *Trans Orthop Res Soc* 1992;7:590
171. Kokubu T, Matsui N, Fujioka H, Tsunoda M, Mizuno K. Low intensity pulsed ultrasound exposure increases prostaglandin E2 production via the induction of cyclooxygenase-2 mRNA in mouse osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;256:284-287
172. Ito M, Azuma Y, Ohta T, Komoriya K. Effects of ultrasound and 1,25-dihydroxyvitamin D3 on growth factor secretion in co-cultures of osteoblasts and endothelial cells. *Ultrasound Med Biol* 2000;26:161-166
173. Naruse K, Miyauchi A, Itoman M, Mikuni-Takagaki Y. Distinct anabolic response of osteoblasts to low-intensity pulsed ultrasound. *J Bone Miner Res* 2003;18:360-369
174. Li JK, Chang WH, Lin JC, et al. Cytokine release from osteoblasts in response to ultrasound stimulation. *Biomaterials* 2003;24:2379-2385
175. Leung KS, Cheung WH, Zhang C, et al. Low intensity pulsed ultrasound stimulates osteogenic activity of human periosteal cells. *Clin Orthop* 2004;418:253-259
176. Cook SD, Salkeld SL, Popich-Patron LS, et al. Improved cartilage repair after treatment with low-intensity pulsed ultrasound. *Clin Orthop* 2001;391S:231-243
177. Miyamoto K, An HS, Sah RL, et al. Exposure to pulsed low intensity ultrasound stimulates extracellular matrix metabolism of bovine intervertebral disc cells cultured in alginate beads. *Spine* 2005;21:2398-2405
178. Wu CC, Lewallen DG, Bolander ME, et al. Exposure to low intensity ultrasound stimulates aggrecan gene expression by cultured chondrocytes. *Trans Orthop Res Soc* 1996;21:622
179. Parvizi J, Wu CC, Lewallen DG, Greenleaf GF, Bolander ME. Low-intensity ultrasound stimulates proteoglycan synthesis in rat chondrocytes by increasing aggrecan gene expression. *J Orthop Res* 1999;17:488-494
180. Rawool D, Goldberg B, Forsberg F, et al. Power Doppler assessment of vascular changes during fracture treatment with low-intensity ultrasound. *Trans Radiol Soc North Am* 1998;83:1185

181. Heckman JD, Ryaby JP, McCabe J, Frey JJ, Kilcoyne RF. Acceleration of tibial fracture healing by non-invasive, low-intensity pulsed ultrasound.  
*J Bone Joint Surg (Am)* 1994;76:26-34
182. Kristiansen TK, Ryaby JP, McCabe J, Frey JJ, Roe LR. Accelerated healing of distal radial fractures with the use of specific, low-intensity ultrasound. A multicenter, prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study.  
*J Bone Joint Surg (Am)* 1997;79:961-973
183. Cook SD, Ryaby JP, McCabe J, et al. Acceleration of tibia and distal radius fracture healing in patients who smoke. *Clin Orthop* 1997;337:198-207
184. Frankel VH. Results of prescription use of pulse ultrasound therapy in fracture management. In: Szabo Z, Lewis JE, Fantini GA, Salvagi RS (eds). *Surgical technology international VII*. San Francisco, Universal Medical Press 1998:389-394
185. Lane JM, Peterson M, Ryaby JP, Testa F. Ultrasound treatment in 2126 fractures. In Proceedings of the Sixth Meeting of the International Society for Fracture Repair, Strasbourg. *J Orthop Trauma* 1999;13:313
186. Mayr E, Rutzki MM, Rutzki M, Borchardt B, Ruter A. Does low intensity, pulsed ultrasound speed healing of scaphoid fractures?  
*Handchir Mikrochir Plast Chir* 2000;32:115-122 German.
187. Leung KS, Lee WS, Tsui HF, Liu PP, Cheung WH. Complex tibial fracture outcomes following treatment with low-intensity pulsed ultrasound.  
*Ultrasound Med Biol* 2004;30:389-395.
188. Nolte PA, van der Krans A, Patka P, et al. Low-intensity pulsed ultrasound in the treatment of nonunions. *J Trauma* 2001;51:693-702
189. Tsumaki N, Kakiuchi M, Sasaki J, et al. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates maturation of callus in patients treated with opening-wedge high tibial osteotomy by hemicallotaxis. *J Bone Joint Surg* 2004;86A:2399-2405
190. Gold SM, Wasserman R. Preliminary results of tibial bone transports with pulsed low intensity ultrasound (Exogen™). *J Orthop Trauma* 2005;19:10-16
191. Gebauer D, Correll J. Pulsed low-intensity ultrasound: A new salvage procedure for delayed unions and nonunions after leg lengthening in children.  
*J Pediatr Orthop* 2005;25:750-754
192. Malizos KN, Hantes ME, Protopappas V, Papachristos A. Low-intensity pulsed ultrasound for bone healing: An overview. *Injury* 2006;37S:56-62
193. Heckman JD, Sarasohn-Kahn J. The economics of treating tibia fractures. The cost of delayed unions. *Bull Hosp Jt Dis* 1997;56:63-72
194. Njeh CF, Hodgkinson R, Currey JD, Langton CM. Orthogonal relationships between ultrasonic velocity and material properties of bovine cancellous bone.  
*Med Eng Phys* 1996;18:373-381

195. Anast T, Fields T, Hiseth A. Ultrasonic technique for the evaluation of bone fracture. *J Phys Med (Am)* 1958;37:157-159
196. Gerlanc M, Haddad D, Hyatt GW, Langloh JT, Hillaire PS. Ultrasonic study of normal and fractured bone. *Clin Orthop* 1975;111:175-180
197. Cunningham JL, Kenwright J, Kershaw CJ. Biomechanical measurement of fracture healing. *J Med Eng Tech* 1990;13:92-101.
198. Njeh CF, Kearton JR, Hans D, and Boivin CM. The use of quantitative ultrasound to monitor fracture healing: a feasibility study using phantoms. *Med Eng Phys* 1999a;20:781-786
199. Njeh C, Hans D, Wu C, et al. An in vitro investigation of the dependence on sample thickness of the speed of sound along the specimen. *Med Eng Phys* 1999b;21:651-659
200. Nunamaker DM. Experimental Models of Fracture Repair. *Clin Orthop* 1998;355(Suppl):56-65
201. Hammer RR, Hammerby S, Lindholm B. Accuracy of radiologic assessment of tibial shaft fracture union in humans. *Clin Orthop* 1985;199:233-238.
202. Whelan DB, Bhandari M, McKee MD, et al. Interobserver and intraobserver variation in the assessment of the healing of tibial fractures after intramedullary fixation. *J Bone Joint Surg (Am)* 2002;84B:15-18
203. Cowin SC. Bone mechanics. Boca Raton, FL: CRC Press, 1991
204. Turner CH, Burr DB. Basic biomechanical measurements of bone: A tutorial. *Bone* 1993;14:595-608
205. Jamsa T, Jalovaara P, Peng Z, Vaananen HK and Tuukkanen J. Comparison of three-point bending test and peripheral quantitative computed tomography analysis in the evaluation of the strength of mouse femur and tibia. *Bone* 1998;23:155-161
206. Rose JL. Ultrasonic waves in solid media. Cambridge: Cambridge University Press, 1999